

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Bacteriology

Бактериология · том 4 · №3 · 2019



2019 • ТОМ 4 • №3

ISSN 2500-1027

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Н а у ч н о - п р а к т и ч е с к и й ж у р н а л

Главный редактор

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

Ответственный секретарь

И.Г.Говорунов, к.б.н.
(Россия)

Редакционный совет

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

Редколлегия

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

Учредитель

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

Адрес учредителя и редакции:

142279, Московская область,
Серпуховский район, п. Оболенск
ФБУН ГНЦ ПМБ

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

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

Издатель

© «Издательство «Династия»



www.phdynasty.ru

Подписано в печать 26.09.2019 г.

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

Журнал «Бактериология»
является рецензируемым изданием.

Выходит четыре раза в год.
Основан в 2016 году.

Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных материалов.

Тираж 1000 экз. Цена свободная.

Отдел рекламы:
Телефон: +7 495 517-7055

Подписной индекс по объединенному
каталогу «Пресса России»: 39920

Колонка главного редактора

О создании центра геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости **5**

Метод микроразведений – универсальный способ определения минимальных ингибирующих концентраций веществ различной природы
К.Ю.Швец, Г.Р.Ахметова, Ал.Х.Баймиев, Б.Р.Кулуев, А.Р.Мавзютов, А.Х.Баймиев, А.Д.Хабирова, Г.Н.Закирова, Г.Ф.Хасанова **7**

Выделение эндогенных антимикробных пептидов и инкапсулирование их в кремнийорганические носители
И.А.Базиков, А.Н.Мальцев, О.И.Седых, В.А.Батурин, А.Д.Болатчиев, А.А.Ефременко **14**

Применение бактериофагов для фаготерапии и фагопрофилактики резистентных к антимикробным препаратам штаммов *Pseudomonas aeruginosa* у пациентов с наружными отитами
Л.Т.Баязитова, О.Ф.Тюпкина, Т.А.Чазова, К.Н.Сюзев, Н.С.Коньшев, Р.И.Валиева, Г.Ш.Исаева, Е.М.Покровская **18**

Оценка качества Бордетелла-агар – питательной среды для культивирования и выделения бордетелл
Я.В.Подкопаев, Л.В.Домотенко, А.П.Шепелин, М.В.Храмов, О.Ю.Борисова, А.С.Пименова, Н.Т.Гадуа **24**

Сравнительный анализ питательных сред для выделения протеев
А.П.Шепелин, О.В.Полосенко **31**

Способ снижения риска передачи воздушно-капельных инфекций посредством обработки воздуха помещений
О.И.Чубатова, Е.Г.Михайлова, Е.В.Скрипникова, О.Н.Доброхотский, Т.Х.Борзенкова, Н.В.Негрый **38**

Оценка эффективности средств на основе фитокомпозиций с антимикробным действием в отношении *Mycobacterium tuberculosis*
Л.В.Домотенко, Н.С.Акимов, С.И.Акимов, О.И.Чубатова, С.А.Чубатова **44**

Бактериально-вирусные ассоциации при дисбиозах вагинального биотопа
Е.В.Наумкина, Е.В.Матущенко, Е.В.Пахалкова **49**

Архивные данные о манифестациях сибирской язвы на территории Российской империи и их современное значение
Д.В.Николаенко, Б.Э.Фидлер **53**

45 лет ГНЦ ПМБ

Обзор международной деятельности НИЦ ТБП
Г.А.Жариков **62**

Очерк о деятельности ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России
И.П.Муцак, О.Н.Доброхотский **65**

Правила для авторов **68**

BACTERIOLOGY

Scientific and Practical Journal

Editor-in-Chief

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

Executive Secretary

I.G.Govorunov, Sc.D.
(Russia)

Editorial Council

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

Editorial Board

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

Founder and Publisher

© State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Editorial Office:

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

Publisher

© «Dynasty» Publishing House



www.phdynasty.ru

Advertising Department:

Phone: +7 495 517 7055; e-mail: reklama@mm-agency.ru

Editor-in-Chief's Introduction

Creation of the world level center for genomic researches to ensure biological safety and technological independence.	5
The microdilution method – universal method for determining the minimum inhibitory concentrations of substances of different nature <i>K.Yu.Shvets, G.R.Akhmetova, Al.H.Baymiev, B.R.Kuluyev, Al.A.R.Mavzyutov, A.H.Baymiev, A.D.Khabirova, G.N.Zakirova, G.F.Khasanova</i>	7
Isolation of endogenous antimicrobial peptides and encapsulation them into organosilicon niosomes <i>I.A.Bazikov, A.N.Maltsev, O.I.Sedykh, V.A.Baturin, A.D.Bolatchiev, A.A.Efremenko</i>	14
Application of bacteriophages for phagotherapy and phagoprophylaxis of anti-microbial resistant <i>Pseudomonas aeruginosa</i> strains in patients with external otitis <i>L.T.Bayazitova, O.F.Tyupkina, T.A.Chazova, K.N.Suzev, N.S.Konyshyev, R.I.Valieva, G.Sh.Isaeva, E.M.Pokrovskaya</i>	18
Assessment of of Boretetelagar quality – nutrient media for cultivation and isolation of bordetela <i>Ya.V.Podkopaev, L.V.Domotenko, A.P.Shepelin, M.V.Khramov, O.Yu.Borisova, A.S.Pimenova, N.T.Gadua</i>	24
Comparative analysis of nutrient media for proteus isolating <i>A.P.Shepelin, O.V.Polosenko</i>	31
A method for reducing the risk of transmission of airborne infections through indoor air treatment <i>O.I.Chubatova, E.G.Mikhaylova, E.V.Skripnikova, O.N.Dobrokhotsky, T.H.Borzenkova, N.V.Negriy</i>	38
Estimation of efficiency of means on the basis of phytocompositions with antimicrobial action against <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>L.V.Domotenko, N.S.Akimova, S.I.Akimov, O.I.Chubatova, S.A.Chubatova</i>	44
Bacterial viral associations in vaginal biotope dysbiosis <i>E.V.Naumkina, E.V.Matushchenko, E.V.Pakhalkova</i>	49
Archival data on the manifestations of anthrax in the Russian Empire and their modern significance <i>D.V.Nikolaenko, B.A.Fiedler</i>	53

45th anniversary of SRCAMB

RC TBP History and Main Activities <i>G.A.Zharikov</i>	62
Essay on the activities of the medical unit No. 164 <i>I.P.Mushchak, O.N.Dobrokhotsky</i>	65
Instructions for Authors	68

О создании центра геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости

В соответствии с Указом Президента Российской Федерации (№680 от 28.11.2018) Правительством Российской Федерации была разработана и утверждена Федеральная научно-техническая программа развития генетических технологий на 2019–2027 гг. (Постановление №479 от 22.04.2019).

Основными целями программы являются комплексное решение задач ускоренного развития генетических технологий, в том числе технологий генетического редактирования, и создание научно-технологических заделов для медицины, сельского хозяйства и промышленности, а также совершенствование мер предупреждения чрезвычайных ситуаций биологического характера и контроля в этой области. В соответствии с этой программой были поставлены задачи по формированию условий для развития научной и научно-технической деятельности, получения и внедрения результатов, необходимых для создания генетических технологий, в том числе технологий генетического редактирования по направлению Программы; развитие кадрового потенциала российской науки и высокопрофессиональных компетенций исследователей в области генетических технологий; снижение критической зависимости российской науки от иностранных баз генетических и биологических данных, иностранного специализированного программного обеспечения и приборов.

Определены следующие направления реализации Программы: биологическая безопасность и обеспечение технологической независимости; генетические технологии для развития сельского хозяйства; генетические технологии для медицины; генетические технологии для промышленной микробиологии.

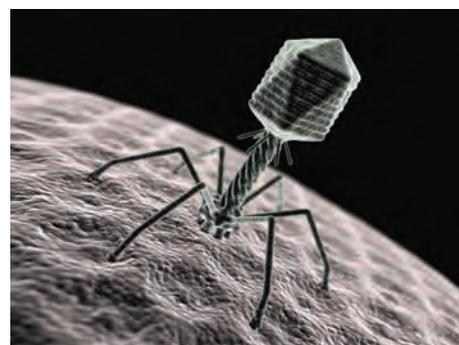
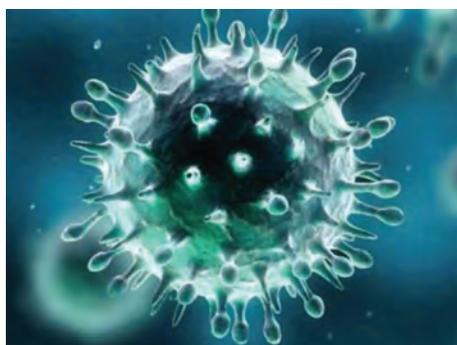
Для участия в этой программе был создан консорциум из трех научных организаций: ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотреб-

надзора (поселок Оболенск Московской области), ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора (поселок Кольцово Новосибирской области), ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (Москва), который представил на конкурс программу создания и развития Центра геномных исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости. Данный консорциум выиграл конкурс на создание соответствующего Центра мирового уровня (краткое название – ЦГИМУ).

Цель программы создания и развития ЦГИМУ – комплексное решение задач ускоренного развития генетических технологий, в том числе технологий генетического редактирования, создание научно-технологических заделов для совершенствования мер предупреждения и ликвидации чрезвычайных ситуаций биологического характера.

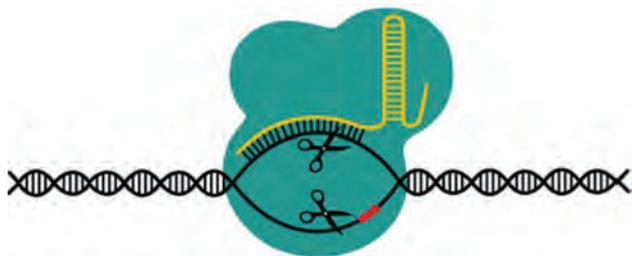
В рамках реализации программы работы ЦГИМУ предполагается решить следующие основные задачи.

1. Формирование условий для развития научной, научно-технической деятельности, создание прорывных генетических технологий, в том числе технологий генетического анализа и редактирования в области биологической безопасности и технологической независимости.
2. Развитие кадрового потенциала российской науки и высокопрофессиональных компетенций исследователей в области генетических технологий.
3. Снижение критической зависимости российской науки от иностранных баз генетических и биологических данных, иностранного специализированного программного обеспечения, оборудования и реагентов.
4. Создание новых средств диагностики, лечения и профилактики опасных и социально значимых инфекционных болезней с использованием генетических технологий.



Генетические исследования ЦГИМУ опираются на постоянно пополняемые базы данных, включающие в себя генетические и фенотипические признаки патогенных микроорганизмов. По I–II группе патогенности исследования связаны с использованием генетических методов для диагностики, создания средств специфической профилактики и лечения опасных инфекций. По III–IV группе разработки направлены на решение проблем лекарственной устойчивости на примере наиболее значимой группы бактериальных патогенов ESKAPE.

Развитие отечественной биоинформационной базы данных по патогенам позволит создать национальный интерактивный каталог с объемами хранения данных не менее, чем в ведущих коллекциях мира. Кроме использования в текущей эпидемиологической деятельности, каталог важен для быстрой идентификации генетически измененных штаммов возбудителей, искусственно синтезированных или принципиально новых.



Поисковые исследования на наличие и выявление особенностей новых CRISPR-Cas-систем у коллекционных штаммов позволят создать высокочувствительные методы индикации и идентификации патогенов на нескольких платформах, включая тесты для полевых условий. Алгоритмы поиска без полногеномного секвенирования и конструирование тестов на основе особенностей системы адаптивного иммунитета каждого патогена являются инновационными.

Направление по борьбе с резистентностью инфекционных агентов связано с поиском новых генов и механизмов устойчивости, созданием тестов (в том числе, чиповых) для идентификации генов, борьбой с биопленками, разработкой биологических, альтернативных антибиотикам, средств противодействия резистентности: рекомбинантных бактериоцинов и ферментов бактериофагов – эндוליзинов и деполимераз. Подобные платформы и коктейли для комплексного лечения данных инфекций будут разработаны и внедрены в практическую медицинскую деятельность.

Одним из наиболее важных направлений современной науки является создание терапевтических человеческих моноклональных антител для лечения поражений, средств специфической терапии для которых не существует – вирусных заболеваний и воздействий биотоксинами. Будет создана платформа для ускоренной разработки соответствующих препаратов при возникновении эпидситуаций и внедрены

средства терапии для ряда заболеваний (4 вирусных и 3 токсических поражения). Разработки создадут основу для создания отечественного производства терапевтических средств данного класса.

С помощью современных генно-инженерных процедур будут созданы новые средства специфической профилактики опасных инфекций, как бактериальных, так и вирусных. Для бактериальных будут разработаны универсальная платформа получения значимых антигенов и гибкая технология выпуска коммерческих форм вакцин. Для вирусов будут применимы технология обратной генетики (вирус гриппа) и использование при создании других вакцин против инфекций штаммов, циркулирующих в России. Для получения антибактериальных вакцин – наши технологии самые передовые в мире, для вирусных – находятся на уровне лучших мировых разработок.

Поддержание на высоком мировом уровне направления исследований по борьбе с ВИЧ-инфекцией будет связано с разработками генотерапевтических препаратов на основе генного редактирования с целью повышения устойчивости клеток иммунной системы к ВИЧ. Для этого будут получены гуманизированные мышиные модели к ВИЧ и создана технология блокирования генов с помощью CRISPR-Cas-системы для получения популяций Т-лимфоцитов с нужными свойствами.

Для решения проблемы технологической независимости государства будут созданы отечественная реагентная база для генетических исследований и производство компонентов системы CRISPR/Cas на уже имеющейся платформе. Производство будет организовано по требованиям и уровню, соответствующим мировому.

На основе разработанных технологий будет создано не менее 14 новых образовательных программ для слушателей различного уровня и обучено не менее 1680 специалистов.

Программа развития ЦГИМУ весьма обширна, и в этом сообщении показаны только некоторые направления ее реализации. Для широкого освещения результатов научно-исследовательских работ в рамках Центра генетических исследований мирового уровня по обеспечению биологической безопасности и технологической независимости в следующем номере журнала «Бактериология» будет введена рубрика, в которой будут публиковаться научные материалы, касающиеся проблемных вопросов генетических исследований в области биологической безопасности, и результаты реализации самой программы.

*Руководитель Центра генетических исследований
мирового уровня по обеспечению биологической безопасности
и технологической независимости,
Директор ФБУН «Государственный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии»
Роспотребнадзора,
академик РАН И.А.Дятлов*

Метод микроразведений – универсальный способ определения минимальных ингибирующих концентраций веществ различной природы

К.Ю.Швец^{1,2}, Г.Р.Ахметова^{2,3}, Ал.Х.Баймиев^{1,2}, Б.Р.Кулуев^{1,2,3}, А.Р.Мавзютов²,
А.Х.Баймиев^{1,2,3}, А.Д.Хабирова^{2,3}, Г.Н.Закирова², Г.Ф.Хасанова²

¹Институт биохимии и генетики, Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Уфа, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Российская Федерация;

³Башкирский государственный университет МОН РФ, Уфа, Российская Федерация

Стандартизован метод количественной оценки антимикробной активности новых химических соединений и веществ различной природы с определением минимальных подавляющих концентраций (МПК).

Для этого исследовано 10 соединений, полученных путем введения нитрильной фракции в состав природных соединений, а также экстракты корней, стебля и листьев следующих растений: *Inula helenium*, *Sonchus arvensis*, *Euphorbia seguieriana*, *Tragopogon podolicus*, *Tragopogon major*, *Euphorbia virgate*, *Serratula coronata*, *Euphorbia semivillosa*, *Crepis sibirica*, *Senecio erucifolius*, *Cirsium setosum*, *Pilosella echioides*, *Taraxacum serotinum*, *Picris hieracioides*, *Sonchus palustris*, *Hieracium umbellatum*, *Scorzonera austriaca*, *Trommsdorffia maculata*, *Taraxacum proximum*, *Scorzonera stricta*, *Picris vaillantii*, *Senecio schwetzovii*, *Cichorium intybus*, *Euphorbia palustris*.

Стандартизованный метод на тестовых штаммах *Escherichia coli* (№25922 ATCC), *Pseudomonas aeruginosa* (№27853 ATCC) и *Staphylococcus aureus* (№206 ATCC) позволяет быстро и надежно количественно оценивать антибактериальную активность больших массивов исследуемых соединений.

Ключевые слова: способ определения минимальных ингибирующих концентраций

Для цитирования: Швец К.Ю., Ахметова Г.Р., Баймиев Ал.Х., Кулуев Б.Р., Мавзютов А.Р., Баймиев А.Х., Хабирова А.Д., Закирова Г.Н., Хасанова Г.Ф. Метод микроразведений – универсальный способ определения минимальных ингибирующих концентраций веществ различной природы. Бактериология. 2019; 4(3): 7–13. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-7-13

The microdilution method – universal method for determining the minimum inhibitory concentrations of substances of different nature

K.Yu.Shvets^{1,2}, G.R.Akhmetova^{2,3}, Al.H.Baymiev^{1,2}, B.R.Kuluyev^{1,2,3}, Al.A.R.Mavzyutov²,
A.H.Baymiev^{1,2,3}, A.D.Khabirova^{2,3}, G.N.Zakirova², G.F.Khasanova²

¹Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation;

²Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation;

³Bashkir State University, Ufa, Russian Federation

The method of quantitative evaluation of antimicrobial activity of new chemical compounds and substances of different nature with determination of minimum suppressive concentrations (MPC) is standardized.

For this purpose, 10 compounds obtained by introducing nitrile fraction into the composition of natural compounds, as well as extracts of roots, stem and leaves of the following plants were studied: *Inula helenium*, *Sonchus arvensis*, *Euphorbia seguieriana*, *Tragopogon podolicus*, *Tragopogon major*, *Euphorbia virgate*, *Serratula coronata*, *Euphorbia semivillosa*, *Crepis sibirica*, *Senecio erucifolius*, *Cirsium setosum*, *Pilosella echioides*, *Taraxacum serotinum*, *Picris hieracioides*, *Sonchus palustris*, *Hieracium umbellatum*, *Scorzonera austriaca*, *Trommsdorffia maculata*, *Taraxacum proximum*, *Scorzonera stricta*, *Picris vaillantii*, *Senecio schwetzovii*, *Cichorium intybus*, *Euphorbia palustris*.

Для корреспонденции:

Мавзютов Айрат Радикович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии, профессор кафедры лабораторной диагностики Института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3

Телефон: (347) 276-1960

E-mail: ufalab@mail.ru

Статья поступила 28.08.2019 г., принята к печати 26.09.2019 г.

For correspondence:

Airat R. Mavzyutov, MD, PhD, DSc, professor, chief of department of fundamental and applied microbiology, professor of department of laboratory diagnostics, Institute of Continuing Professional Education, Bashkir State Medical University

Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation

Phone: (347) 276-1960

E-mail: ufalab@mail.ru

The article was received 28.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

The standardized method on test strains of *Escherichia coli* (No. 25922 ATCC), *Pseudomonas aeruginosa* (No. 27853 ATCC) and *Staphylococcus aureus* (No. 206 ATCC) allows to quickly and accurately quantify the antibacterial activity a lot of the studied compounds.

Keywords: *method of determination of minimum inhibitory concentrations*

For citation: Shvets K.Yu., Akhmetova G.R., Baymiev A.I.H., Kuluyev B.R., Mavzyutov A.I.A.R., Baymiev A.H., Khabirova A.D., Zakirova G.N., Khasanova G.F. The microdilution method – universal method for determining the minimum inhibitory concentrations of substances of different nature. Bacteriology. 2019; 4(3): 7–13. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-7-13

Инфекционные болезни бактериальной этиологии на протяжении многих столетий были и остаются наиболее опасными болезнями человеческого организма из-за их способности вовлечь в процесс большое число здоровых людей в течение короткого периода времени. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) 2013 г., в Российской Федерации зарегистрировано более 33 млн 225 тыс. случаев инфекционных заболеваний (в 2012 г. – 31 млн 477 тыс.). В 2013 г. в России умерло 1,9 млн человек, от инфекционных болезней – 31 808 (1,7%), зарегистрировано 33 млн 255 тыс. случаев инфекционных болезней, летальный исход составил 0,096%. В современной медицинской практике серьезную проблему представляет терапия заболеваний, вызванных устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами [1, 2]. В 2012 г. были опубликованы данные о наличии множественной (MDR), экстремальной (XDR) и даже полной (PDR) устойчивости к антибиотикам у большинства видов бактерий [3]. Подобное явление чаще всего обусловлено сцеплением генов устойчивости к антибиотикам с другими детерминантами резистентности.

Современный фармацевтический рынок предлагает широкий спектр противомикробных и антисептических дезинфицирующих средств как синтетического, так и природного происхождения. Интересным представляется использование соединений, полученных путем введения нитрильной фракции в молекулы природных соединений, биосовместимость которых подтверждается распространенностью нитрилсодержащих фармацевтических препаратов, а также продолжающимися исследованиями потенциальных антибактериальных агентов в клинических условиях [4–6]. Нитрильная группа достаточно устойчива и в большинстве случаев не подвергается метаболизму в человеческом организме. Благодаря многообразию механизмов взаимодействия с биологическими мишенями нитрилсодержащие производные все чаще привлекают внимание в качестве перспективных агентов для создания на их основе различных лекарственных препаратов.

Также не менее интересным является поиск природных источников потенциальных антибиотиков. Перспективным является использование каучуконосных растений, которые на данный момент рассматриваются в качестве одной из перспективных альтернатив антибиотикам, получаемым из микроорганизмов [7].

В настоящее время для оценки чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам применяют фенотипические методы (диско-диффузионный метод, метод серийных разведений), которые предполагают оценку влияния веществ на жизнедеятельность микроорганизмов по таким параметрам, как скорость роста и биохимическая

активность. Существенным недостатком данных методов является трудоемкость проводимых манипуляций, способствующая отдалению процесса подбора подходящей антибиотикотерапии и применения ее на практике. В связи с этим встает важнейшая практическая задача совершенствования методик быстрого и точного определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, что, в свою очередь, является необходимым для подбора потенциально применимого препарата и выбора подходящей тактики антибиотикотерапии.

Цель исследования – стандартизация метода количественной оценки антимикробной активности новых химических соединений и веществ различной природы с определением минимальных подавляющих концентраций (МПК).

Материалы и методы

Объектами исследования стали 10 соединений, полученных путем введения нитрильной фракции в молекулы природных соединений, а также корни, стебли и листья следующих растений: *Inula helenium* (Девясил высокий), *Sonchus arvensis* (Осот полевой), *Euphorbia seguieriana* (Молочай Сегье), *Tragopogon podolicus* (Козлобородник подольский), *Tragopogon major* (Козлобородник большой), *Euphorbia virgate* (Молочай лозный), *Serratula coronata* (Серпуха венечносная), *Euphorbia semivillosa* (Молочай полумохнатый), *Crepis sibirica* (Скерда сибирская), *Senecio erucifolius* (Крестовник зруколистный), *Cirsium setosum* (Бодяк щетинистый), *Pilosella echioides* (Ястребиночка румянквидная), *Taraxacum serotinum* (Одуванчик поздний), *Picris hieracioides* (Горлюха ястребинковидная), *Sonchus palustris* (Осот болотный), *Hieracium umbellatum* (Ястребинка зонтичная), *Scorzonera austriaca* (Козелец австрийский), *Trommsdorffia maculata* (Прозанник крапчатый), *Taraxacum proximum* (Одуванчик ближайший), *Scorzonera stricta* (Козелец прямой), *Picris vaillantii* (Ястребиночка Вайана), *Senecio schwetsovii* (Крестовник Швецова), *Cichorium intybus* (Цикорий обыкновенный), *Euphorbia palustris* (Молочай болотный).

В качестве тестовых микроорганизмов использовали музейные штаммы: *Escherichia coli* (№25922 ATCC), *Pseudomonas aeruginosa* (№27853 ATCC) и *Staphylococcus aureus* (№206 ATCC USA).

Определение антимикробной активности и количественное определение МПК новых химических соединений и растительных экстрактов проводили с использованием референтного метода микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтона (Mueller-Hinton Broth, HiMedia, Индия). Данный метод основан на принципах, описанных Ericsson и Sherris, широко применяется для оценки антибиотикочувствитель-

ности быстрорастущих аэробных бактерий в различных странах и рекомендован Европейским комитетом по оценке антибиотикочувствительности (EUCAST) [8–11].

Для проведения исследования антимикробной активности растительных экстрактов растительные ткани замораживали при -70° в течение 1 ч, а затем подвергали их гомогенизации в ступке с пестиком. После этого ткани растений помещали с помощью пинцета в отдельные пробирки типа Eppendorf. Экстракцию метаболитов из этого порошка проводили раздельно в гексане (около 100%) при комнатной температуре в течение 1,5 ч при постоянном помешивании на шейкере. После этого экстракты оставляли на 2 ч при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и затем нагревали 1 ч до 37°C . Далее центрифугировали при 12 000 об./мин. в течение 20 минут. В дальнейшем для экспериментов использовали надосадочную жидкость.

Основные растворы химических соединений готовили для анализа из имевшихся навесок тестируемых веществ в стерильных флаконах, которые растворяли в 1 мл диметилсульфоксида (ДМСО) с вычислением процентной концентрации (С%, %). Затем готовили рабочие растворы путем двукратных последовательных разведений основных растворов в бульоне Мюллера-Хинтона (HiMedia, Индия). Для каждого соединения было приготовлено 7 последовательных разведений (мг/л). Готовые разведения использовали в день их приготовления.

Инокулюм готовили путем суспендирования в физиологическом растворе 4–5 морфологически однородных колоний, выросших на чистой неселективной твердой питательной среде, инкубированной при 37°C в течение 18–24 ч, и доводили суспензию до мутности, эквивалентной 0,5 стандарта МакФарланд ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл). Далее приготовленный инокулюм разводили в бульоне Мюллера-Хинтона (разведение 1:100), чтобы получить необходимую плотность микробной культуры 5×10^6 КОЕ/мл. Планшеты инокулировались в течение не более 30 мин после приготовления ино-

кулюма для сохранения необходимого числа жизнеспособных клеток.

Для проведения эксперимента по определению антибактериальной активности и минимальных подавляющих концентраций использовали 96-луночные планшеты Corning® 96-well Clear Flat Bottom Polystyrene High Bind Microplate, 25 per Bag, without Lid (USA), в отдельные лунки которых последовательно добавляли по 50 мкл каждого из рабочих растворов тестируемых химических соединений. К каждой лунке, содержащей 50 мкл раствора химического соединения, разведенного в бульоне, добавляли 50 мкл бактериальной суспензии (5×10^6 КОЕ/мл).

Для контроля роста всех проверяемых штаммов микроорганизмов обязательно ставили положительный контрольный образец (ПКО) в лунке, содержащей 50 мкл бульона и инокулюма соответствующего микроорганизма без химического соединения или растительного экстракта. Аналогично, лунка, содержащая 50 мкл питательного бульона без химического соединения или растительного экстракта, была использована как неинокулированная лунка отрицательного контрольного образца (ОКО).

Планшеты для микроразведений перед инкубацией заклеивали прозрачной пленкой и запечатывали в полиэтиленовые пакеты для предотвращения высушивания. Планшеты инкубировали в термостате в течение 16–20 ч при 37°C . Для более равномерного нагревания планшеты были сложены в стопки не больше чем по пять штук.

Результаты учитывали только при наличии достаточного роста испытуемого микроорганизма в положительном контроле, а также при отсутствии бактериального роста в отрицательном контроле. Бактериальный рост контролировали путем измерения оптической плотности клеток на приборе EnSpire Model 2300 Multilabel Microplate Reader (Perkin Elmer, США) при длине волны 655 нм. Результаты определения МПК тестируемых химических соединений и растительных экстрактов представлены в таблицах 1–4.

Таблица 1. Изменение значений оптической плотности при культивировании исследуемых химических соединений в присутствии бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (№27853 ATCC)

Исследуемое вещество	Концентрация веществ, мг/л							ПКО Меропенем (10 мг/л)	ПКО Бульон + инокулюм	ПКО Бульон + инокулюм + ДМСО	ОКО Бульон	ОКО Бульон + ДМСО
	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044					
Sub_1	0,403	0,375	0,419	0,405	0,402	0,388	0,386	0,044	0,317	0,305	0,034	0,036
Sub_2	0,292	0,355	0,362	0,404	0,409	0,416	0,420	0,050	0,403	0,340	0,052	0,049
Sub_3	0,303	0,301	0,341	0,345	0,398	0,398	0,358	0,094	0,358	0,329	0,065	0,067
Sub_4	0,270	0,253	0,275	0,267	0,291	0,248	0,232	0,050	0,270	0,246	0,039	0,041
Sub_5	0,411	0,408	0,370	0,399	0,396	0,403	0,326	0,060	0,369	0,344	0,039	0,039
Sub_6	0,424	0,397	0,389	0,372	0,390	0,375	0,352	0,064	0,382	0,349	0,064	0,050
Sub_7	0,394	0,365	0,379	0,384	0,368	0,368	0,341	0,076	0,368	0,337	0,066	0,084
Sub_8	0,310	0,255	0,286	0,290	0,232	0,258	0,294	0,066	0,307	0,268	0,043	0,047
Sub_9	0,450	0,436	0,396	0,406	0,407	0,426	0,360	0,050	0,362	0,321	0,039	0,043
Sub_10	0,299	0,363	0,391	0,385	0,368	0,410	0,352	0,055	0,398	0,330	0,054	0,048

Результаты и обсуждение

Исследование антибактериальной активности новых химических соединений с использованием референтного метода микроразведений в бульоне позволило выявить антимикробную активность сразу нескольких соединений в отношении тестируемых штаммов условно-патогенных микроорганизмов. В частности, химическое вещество Sub_2 (МПК = 0,7 мг/л) обладало антибактериальным действием в отношении бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (табл. 1). Оптическая плотность увеличивалась с уменьшением концентрации действующего вещества, что, в свою очередь, свидетельствовало о подавлении роста бактерий в питательном бульоне. Остальные исследуемые вещества

антимикробной активностью в отношении данного вида не обладали.

Анализ данных, полученных для другой грамотрицательной бактерии – *Escherichia coli*, позволил выделить вещество Sub_4 и определить его как стимулятор роста бактерий, поскольку по ходу эксперимента наблюдалось линейное увеличение оптической плотности от одного разведения к другому (табл. 2). Вероятно, с увеличением концентрации указанного вещества происходила интенсификация жизненного цикла бактерии и, как следствие, увеличение ее концентрации в культуральной среде. Для остальных исследуемых соединений антимикробная активность в отношении штамма бактерии *Escherichia coli* не фиксировалась.

Таблица 2. Изменение значений оптической плотности при культивировании исследуемых химических соединений в присутствии бактерии *Escherichia coli* (№25922 ATCC)

Исследуемое вещество	Концентрация веществ, мг/л							ПКО Меропенем (10 мг/л)	ПКО Бульон + инокулюм	ПКО Бульон + инокулюм + ДМСО	ОКО Бульон	ОКО Бульон + ДМСО
	Оптическая плотность											
Sub_1	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044	0,057	0,309	0,319	0,056	0,045
	0,374	0,307	0,264	0,303	0,271	0,301	0,288					
Sub_2	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044	0,054	0,290	0,286	0,049	0,054
	0,329	0,278	0,229	0,155	0,218	0,260	0,253					
Sub_3	3,1	1,55	0,775	0,388	0,194	0,097	0,048	0,057	0,229	0,245	0,064	0,063
	0,310	0,245	0,223	0,225	0,228	0,265	0,231					
Sub_4	2,95	1,475	0,738	0,369	0,184	0,092	0,046	0,053	0,211	0,239	0,047	0,041
	0,318	0,254	0,216	0,197	0,191	0,183	0,168					
Sub_5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,052	0,294	0,309	0,067	0,040
	0,303	0,272	0,236	0,278	0,0226	0,262	0,245					
Sub_6	3,0	1,5	0,75	0,375	0,188	0,094	0,047	0,051	0,261	0,274	0,050	0,056
	0,307	0,222	0,209	0,221	0,255	0,263	0,244					
Sub_7	2,7	1,35	0,675	0,338	0,169	0,084	0,042	0,056	0,242	0,260	0,069	0,086
	0,296	0,223	0,213	0,184	0,219	0,218	0,212					
Sub_8	2,75	1,375	0,688	0,344	0,172	0,084	0,043	0,045	0,203	0,222	0,033	0,037
	0,166	0,174	0,223	0,139	0,188	0,165	0,174					
Sub_9	2,6	1,3	0,65	0,325	0,163	0,081	0,040	0,054	0,297	0,305	0,039	0,039
	0,308	0,279	0,275	0,275	0,293	0,309	0,284					
Sub_10	3,05	1,525	0,763	0,381	0,190	0,095	0,048	0,050	0,270	0,291	0,044	0,057
	0,286	0,227	0,221	0,244	0,319	0,333	0,258					

Таблица 3. Изменение значений оптической плотности при культивировании исследуемых химических соединений в присутствии бактерии *Staphylococcus aureus* (№206 ATCC USA)

Исследуемое вещество	Концентрация веществ, мг/л							ПКО Меропенем (10 мг/л)	ПКО Бульон + инокулюм	ПКО Бульон + инокулюм + ДМСО	ОКО Бульон	ОКО Бульон + ДМСО
	Оптическая плотность											
Sub_1	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044	0,051	0,245	0,146	0,032	0,030
	0,170	0,099	0,110	0,102	0,102	0,133	0,133					
Sub_2	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044	0,039	0,139	0,153	0,039	0,041
	0,163	0,132	0,144	0,32	0,133	0,138	0,141					
Sub_3	3,1	1,55	0,775	0,388	0,194	0,097	0,048	0,05	0,216	0,227	0,065	0,048
	0,220	0,183	0,184	0,210	0,236	0,35	0,216					
Sub_4	2,95	1,475	0,738	0,369	0,184	0,092	0,046	0,044	0,175	0,207	0,052	0,049
	0,136	0,139	0,121	0,186	0,160	0,252	0,161					
Sub_5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,048	0,166	0,159	0,035	0,054
	0,211	0,171	0,147	0,174	0,168	0,19	0,187					
Sub_6	3,0	1,5	0,75	0,375	0,188	0,094	0,047	0,039	0,147	0,160	0,036	0,041
	0,178	0,158	0,130	0,134	0,141	0,141	0,134					
Sub_7	2,7	1,35	0,675	0,338	0,169	0,084	0,042	0,053	0,228	0,241	0,050	0,051
	0,257	0,233	0,230	0,246	0,245	0,223	0,220					
Sub_8	2,75	1,375	0,688	0,344	0,172	0,084	0,043	0,047	0,165	0,172	0,074	0,052
	0,201	0,149	0,257	0,160	0,187	0,180	0,163					
Sub_9	2,6	1,3	0,65	0,325	0,163	0,081	0,040	0,051	0,154	0,151	0,046	0,032
	0,201	0,208	0,146	0,176	0,174	0,186	0,164					
Sub_10	3,05	1,525	0,763	0,381	0,190	0,095	0,048	0,043	0,150	0,155	0,038	0,050
	0,213	0,251	0,158	0,153	0,253	0,133	0,138					

В отношении штамма *Staphylococcus aureus* тестируемые химические соединения антимикробную активность не проявляли, о чем свидетельствовали значения оптической плотности культивируемой жидкости в соответствующих лунках планшетов (табл. 3).

Проведение анализа антимикробной активности растительных экстрактов в отношении штамма *Escherichia coli* с использованием предлагаемой методики позволило выявить антибактериальную активность корней следующих растений: *Sonchus arvensis* (Осот полевой), *Taraxacum serotinum* (Одуванчик поздний), *Cichorium intybus* (Цикорий обыкновенный) (табл. 4). Данный клинически значимый штамм бактерий оказался восприимчив к указанным выше растительным экстрактам, и процент подавления бактериального

роста при этом составил 46,9%, 50,3% и 51,7% соответственно. Полученные результаты подтвердили возможность использования каучуконосных растений в качестве первичного сырья для получения препаратов с антимикробными свойствами, а также перспективность выделения биологически активных соединений в виде экстрактов.

Таким образом, референтный метод микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтона был нами модифицирован и усовершенствован с целью возможности определения антимикробной активности и МПК для антибактериальных веществ различной природы (химические вещества, растительные экстракты). Результаты наших экспериментов доказывают возможность и целесообразность использования данной методики при описании антимикробных свойств

Таблица 4. Изменение значений оптической плотности при культивировании исследуемых растительных экстрактов в присутствии бактерии *Escherichia coli* (№25922 ATCC)

Вид растения	Орган растения	Оптическая плотность	ПКО Бульон + инокулюм	ОКО Бульон + гексан	ОКО Бульон + растительный экстракт
<i>Inula helenium</i> – Девясил высокий	Корни	0,5967	0,457	0,023	0,013
<i>Inula helenium</i> – Девясил высокий	Стебли	0,538	0,516	0,012	0,018
<i>Inula helenium</i> – Девясил высокий	Листья	0,3623	0,557	0,029	0,022
<i>Sonchus arvensis</i> – Осот полевой	Корни	0,2437	0,519	0,026	0,018
<i>Sonchus arvensis</i> – Осот полевой	Стебли	0,3933	0,454	0,024	0,019
<i>Sonchus arvensis</i> – Осот полевой	Листья	0,36	0,415	0,022	0,026
<i>Euphorbia seguieriana</i> – Молочай Сегье	Корни	0,3533	0,494	0,014	0,025
<i>Euphorbia seguieriana</i> – Молочай Сегье	Стебли	0,277	0,404	0,02	0,016
<i>Euphorbia seguieriana</i> – Молочай Сегье	Листья	0,621	0,669	0,017	0,19
<i>Tragopogon podolicus</i> – Козлобородник подольский	Корни	0,6237	0,637	0,007	0,02
<i>Tragopogon podolicus</i> – Козлобородник подольский	Стебли	0,62	0,603	0,012	0,018
<i>Tragopogon podolicus</i> – Козлобородник подольский	Листья	0,558	0,556	0,016	0,022
<i>Tragopogon major</i> – Козлобородник большой	Корни	0,5157	0,532	0,014	0,016
<i>Tragopogon major</i> – Козлобородник большой	Стебли	0,3753	0,543	0,68	0,024
<i>Tragopogon major</i> – Козлобородник большой	Листья	0,4	0,497	0,02	0,025
<i>Euphorbia virgata</i> – Молочай лозный	Корни	0,339	0,34	0,023	0,015
<i>Euphorbia virgata</i> – Молочай лозный	Стебли	0,455	0,354	0,047	0,06
<i>Euphorbia virgata</i> – Молочай лозный	Листья	0,52	0,363	0,066	0,035
<i>Serratula coronata</i> – Серпуха венценосная	Корни	0,639	0,464	0,066	0,065
<i>Serratula coronata</i> – Серпуха венценосная	Стебли	0,655	0,283	0,065	0,045
<i>Serratula coronata</i> – Серпуха венценосная	Листья	0,502	0,436	0,021	0,025
<i>Euphorbia semivillosa</i> – Молочай полумохнатый	Корни	0,503	0,366	0,02	0,023
<i>Euphorbia semivillosa</i> – Молочай полумохнатый	Стебли	0,437	0,377	0,018	0,098
<i>Euphorbia semivillosa</i> – Молочай полумохнатый	Листья	0,416	0,348	0,015	0,019
<i>Crepis sibirica</i> – Скерда сибирская	Стебли	0,567	0,538	0,025	0,006
<i>Senecio erucifolius</i> – Крестовник эруколистный	Листья	0,451	0,522	0,015	0,025
<i>Cirsium setosum</i> – Бодяк щетинистый	Листья	0,429	0,543	0,014	0,014
<i>Pilosella echioides</i> – Ястребиночка румянковидная	Корни	0,534	0,547	0,026	0,018
<i>Taraxacum serotinum</i> – Одуванчик поздний	Листья	0,531	0,549	0,023	0,022
<i>Picris hieracioides</i> – Горлюха ястребинковидная	Листья	0,43	0,426	0,018	0,66
<i>Sonchus palustris</i> – Осот болотный	Корни	0,373	0,367	0,013	0,015
<i>Cirsium setosum</i> – Бодяк щетинистый	Стебли	0,415	0,323	0,031	0,019
<i>Pilosella echioides</i> – Ястребиночка румянковидная	Листья	0,3803	0,381	0,022	0,026
<i>Picris hieracioides</i> – Горлюха ястребинковидная	Корни	0,3083	0,506	0,02	0,021
<i>Crepis sibirica</i> – Скерда сибирская	Корни	0,591	0,423	0,015	0,022
<i>Hieracium umbellatum</i> – Ястребинка зонтичная	Стебли	0,5213	0,61	0,022	0,022
<i>Senecio erucifolius</i> – Крестовник эруколистный	Стебли	0,5483	0,498	0,021	0,017
<i>Scorzonera austriaca</i> – Козелец австрийский	Корни	0,4637	0,376	0,021	0,01
<i>Taraxacum serotinum</i> – Одуванчик поздний	Корни	0,2127	0,423	0,019	0,016
<i>Pilosella echioides</i> – Ястребиночка румянковидная	Стебли	0,3007	0,414	0,02	0,009
<i>Sonchus palustris</i> – Осот болотный	Листья	0,4707	0,59	0,018	0,016
<i>Crepis sibirica</i> – Скерда сибирская	Листья	0,4277	0,508	0,015	0,02
<i>Sonchus palustris</i> – Осот болотный	Стебли	0,6443	0,585	0,014	0,015
<i>Hieracium umbellatum</i> – Ястребинка зонтичная	Корни	0,4783	0,54	0,021	0,013
<i>Trommsdorffia maculata</i> – Прозанник крапчатый	Листья	0,4993	0,613	0,016	0,017
<i>Taraxacum proximum</i> – Одуванчик ближайший	Корни	0,3947	0,554	0,025	0,016
<i>Scorzonera stricta</i> – Козелец прямой	Корни	0,3223	0,581	0,018	0,025
<i>Scorzonera stricta</i> – Козелец прямой	Листья	0,3703	0,439	0,024	0,021
<i>Picris vailantii</i> – Ястребиночка Вайана	Корни	0,4173	0,357	0,017	0,026
<i>Senecio erucifolius</i> – Крестовник эруколистный	Листья	0,552	0,428	0,017	0,016

Таблица 4. Окончание

Вид растения	Орган растения	Оптическая плотность	ПКО Бульон + инокулюм	ОКО Бульон + гексан	ОКО Бульон + растительный экстракт
<i>Senecio schwetsovii</i> – Крестовник Швецова	Листья	0,5517	0,429	0,023	0,016
<i>Crepis praemorsa</i> – Скерда тупокоренная	Листья	0,443	0,641	0,02	0,021
<i>Picris hieracioides</i> – Горлюха ястребинковидная	Стебли	0,396	0,465	0,018	0,017
<i>Cirsium setosum</i> – Бодяк щетинистый	Корни	0,338	0,452	0,023	0,019
<i>Taraxacum proximum</i> – Одуванчик ближайший	Листья	0,379	0,385	0,014	0,019
<i>Hieracium umbellatum</i> – Ястребинка зонтичная	Листья	0,3683	0,36	0,021	0,013
<i>Cichorium intybus</i> – Цикорий обыкновенный	Листья	0,3933	0,459	0,023	0,013
<i>Crepis praemorsa</i> – Скерда тупокоренная	Корни	0,493	0,485	0,018	0,017
<i>Cichorium intybus</i> – Цикорий обыкновенный	Стебли	0,5657	0,689	0,018	0,014
<i>Scorzonera stricta</i> – Козелец прямой	Стебли	0,4113	0,503	0,022	0,014
<i>Cichorium intybus</i> – Цикорий обыкновенный	Корни	0,2923	0,566	0,021	0,023
<i>Euphorbia palustris</i> – Молочай болотный	Листья	0,4723	0,455	0,015	0,015
<i>Trommsdorfia maculata</i> – Прозанник крапчатый	Стебли	0,3807	0,381	0,024	0,013
<i>Picris vaillantii</i> – Ястребиночка Вайана	Листья	0,329	0,433	0,019	0,007
<i>Euphorbia palustris</i> – Молочай болотный	Стебли	0,397	0,336	0,017	0,019
<i>Picris vaillantii</i> – Ястребиночка Вайана	Стебли	0,608	0,44	0,022	0,017
<i>Senecio erucifolius</i> – Крестовник эруколистный	Корни	0,592	0,407	0,019	0,02
<i>Senecio schwetsovii</i> – Крестовник Швецова	Стебли	0,451	0,38	0,021	0,017
<i>Trommsdorfia maculata</i> – Прозанник крапчатый	Корни	0,515	0,572	0,018	0,019
<i>Crepis praemorsa</i> – Скерда тупокоренная	Стебли	0,295	0,361	0,017	0,016
<i>Senecio schwetsovii</i> – Крестовник Швецова	Корни	0,339	0,347	0,018	0,025
<i>Euphorbia palustris</i> – Молочай болотный	Корни	0,23	0,311	0,019	0,105

новых антибактериальных веществ и субстанций, поскольку проведение определения МПК с использованием только диско-диффузионного метода или автоматизированного тестирования чувствительности к пограничным и близким к ним концентрациям антибактериальных препаратов делает получение истинных значений МПК затруднительным и сводит все результаты к градации «резистентный – умеренно резистентный – чувствительный». Такие категории служат дополнительным ограничением для большинства врачей-клиницистов при назначении адекватной антибиотикотерапии.

Литература

- Chandy M, Bhattacharya S. The problem of multi-drug resistant Gram-negative Infections among Cancer patients in Eastern India. Book of Abstracts the 11th Indo-Australian Biotechnology conference on innovation in the immunology of infection, cancer and autoimmune diseases and vaccines. 2015; 39.
- Martin E, Sanjay B, Bärbel C, Jürgen G, Peter GB, Philippe H, et al. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug – resistant Gram – negative bacteria? GMS Hyg Infect Control. 2017 Apr 10;12:Doc05. DOI: 10.3205/dgkh000290
- Marin HK, Yoav G, Scott TM, Andrew FS, Marcos IR. Appraising Contemporary Strategies to Combat Multidrug Resistant Gram-Negative Bacterial Infections– Proceedings and Data From the Gram-Negative Resistance Summit. Clin Infect Dis. 2011 Sep;53 Suppl 2:S33-55; quiz S56-8. DOI: 10.1093/cid/cir475
- Drusano GL, Louie A. Optimization of aminoglycoside therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(6):2528-31.
- Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Cooperative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. Chest. 2009 Nov;136(5):1237-1248. DOI: 10.1378/chest.09-0087.
- Kuti JL. Optimizing antimicrobial pharmacodynamics: a guide for your stewardship program. Revista Médica Clínica Las Condes. 2016;27(5):615-24.
- Кулеув БР, Ахметова ГР, Швец КЮ, Мулдашев АА, Мавзютов АР, Чемерис АВ. Выявление антимикробной активности у потенциальных каучуконосов флоры Южного Урала. Биомика. 2019;11(1):71-85.

- EUCAST warnings concerning antimicrobial susceptibility testing products or procedures. Available at: http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/warnings/.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 8.0 2018. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/.
- ISO 20776-1:2006 «Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices». Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases
- Rodriguez-Tudela J., Donnelly J., Arendrup M., et al. EUCAST technical note on the method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia-forming moulds. Clin Microbiol Infect. 2008 Oct;14(10):982-4. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02086.x

References

- Chandy M, Bhattacharya S. The problem of multi-drug resistant Gram-negative Infections among Cancer patients in Eastern India. Book of Abstracts the 11th Indo-Australian Biotechnology conference on innovation in the immunology of infection, cancer and autoimmune diseases and vaccines. 2015; 39.
- Martin E, Sanjay B, Bärbel C, Jürgen G, Peter GB, Philippe H, et al. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug – resistant Gram – negative bacteria? GMS Hyg Infect Control. 2017 Apr 10;12:Doc05. DOI: 10.3205/dgkh000290
- Marin HK, Yoav G, Scott TM, Andrew FS, Marcos IR. Appraising Contemporary Strategies to Combat Multidrug Resistant Gram-Negative Bacterial Infections– Proceedings and Data From the Gram-Negative Resistance Summit. Clin Infect Dis. 2011 Sep;53 Suppl 2:S33-55; quiz S56-8. DOI: 10.1093/cid/cir475
- Drusano GL, Louie A. Optimization of aminoglycoside therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(6):2528-31.
- Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Cooperative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. Chest. 2009 Nov;136(5):1237-1248. DOI: 10.1378/chest.09-0087.
- Kuti JL. Optimizing antimicrobial pharmacodynamics: a guide for your stewardship program. Revista Médica Clínica Las Condes. 2016;27(5):615-24.

7. Kuluev BR, Akhmetova GR, Shvets KYu, Muldashev AA, Mavzyutov AR, Chemeris AV. Identification of the antimicrobial activity in extracts of potential rubber-bearing plants of the flora of the Southern Urals. *Biomics*. 2019;11(1):71-85. (In Russian).
8. EUCAST warnings concerning antimicrobial susceptibility testing products or procedures. Available at: http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/warnings/.
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 8.0 2018. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/.
10. ISO 20776-1:2006 "Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices". Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases
11. Rodriguez-Tudela J., Donnelly J., Arendrup M., et al. EUCAST technical note on the method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia-forming moulds. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Oct;14(10):982-4. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02086.x

Информация об авторах:

Швец Ксения Юрьевна, ассистент кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: kseniya.shvets@yandex.ru

Ахметова Гульнара Раилевна, старший лаборант кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: akhmetova.29@bk.ru

Баймиев Алексей Ханифович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биоинженерии растений и микроорганизмов Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, профессор кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России.
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: baymiev@mail.ru

Кулуев Булат Резяпович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией геномики растений Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, профессор кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: kuluev@bk.ru

Баймиев Андрей Ханифович, доктор биологических наук, профессор кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: andr0002@list.ru

Хабирова Анастасия Дмитриевна, ассистент кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: ndvorenkova@mail.ru

Закирова Гузель Насимовна, биолог отделения клинической лабораторной диагностики клиники ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450083, Уфа, ул. Шафиева, 2
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: hasanovagf79@mail.ru

Хасанова Гузель Фаузавиевна, старший преподаватель кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: hasanovagf79@mail.ru

Information about authors:

Ksenia Yu. Shvets, assistant of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: kseniya.shvets@yandex.ru

Gulnara R. Akhmetova, senior laboratory assistant of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University.
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: akhmetova.29@bk.ru

Alexey H. Baimiev, PhD, DSc (Biology), professor, chief of laboratory of plant and microorganism bioengineering, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Professor, department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: baymiev@mail.ru

Bulat R. Kuluev, PhD, DSc (Biology), head of plant genomics laboratory of Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Professor, professor of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University.
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: kuluev@bk.ru

Andrey H. Baimiev, PhD, DSc (Biology), professor, chief of department fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: andr0002@list.ru

Anastasia D. Khabirova, assistant of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: ndvorenkova@mail.ru

Guzel N. Zakirova, biologist of the department of clinical laboratory diagnostics of the clinic, Bashkir State Medical University
Address: 2, Shafiev str., Ufa, 450083, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: hasanovagf79@mail.ru

Guzel F. Khasanova, senior lecturer of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: hasanovagf79@mail.ru

Выделение эндогенных антимикробных пептидов и инкапсулирование их в кремнийорганические ниосомы

И.А.Базиков, А.Н.Мальцев, О.И.Седых, В.А.Батуринов, А.Д.Болатчиев, А.А.Ефременко

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

Разработана методика выделения эндогенных антимикробных пептидов (АМП). В качестве сырья для получения эндогенных АМП использовали лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарную массу крови доноров. Использовали ферментативный гидролиз исходного сырья, пропускание через разделительную колонку с Сефадексом G-25 и последующей стерилизующей фильтрацией полученной субстанции через мелкопористые фильтры с диаметром пор 0,2 мкм. Выделение АМП проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на разделительной колонке с трехкратным использованием Сефадекса G-25. АМП инкапсулированы в кремнийорганические ниосомы.

Ключевые слова: антимикробные пептиды, дефензины, ниосомы, антибиотикоустойчивые микроорганизмы

Для цитирования: Базиков И.А., Мальцев А.Н., Седых О.И., Батуринов В.А., Болатчиев А.Д., Ефременко А.А. Выделение эндогенных антимикробных пептидов и инкапсулирование их в кремнийорганические ниосомы. Бактериология. 2019; 4(3): 14–17. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-14-17

Isolation of endogenous antimicrobial peptides and encapsulation them into organosilicon niosomes

I.A.Bazikov, A.N.Maltsev, O.I.Sedykh, V.A.Baturin, A.D.Bolatchiev, A.A.Efremenko

Stavropol State Medical University, Stavropol, Russian Federation

A technique for isolating of endogenous antimicrobial peptides (AMP) has been developed. Leukocyte-erythrocyte-platelet blood mass of donors was used as raw material for preparing endogenous AMP. Enzymatic hydrolysis was used, passing through the Sephadex separation column G-25 followed by sterilizing filtration of the obtained substance through fine pore filters having a pore diameter of 0.2 μm. The separation of antimicrobial peptides was carried out by high performance liquid chromatography on the separation column using Sephadex G-25 three times. The AMP are encapsulated in organosilicon niosomes.

Keywords: antimicrobial peptides, defensins, niosomes, antibiotic-resistant microorganisms

For citation: Bazikov I.A., Maltsev A.N., Sedykh O.I., Baturin V.A., Bolatchiev A.D., Efremenko A.A. Isolation of endogenous antimicrobial peptides and encapsulation them into organosilicon niosomes. Bacteriology. 2019; 4(3): 14–17. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-14-17

В настоящее время в медицине большое внимание уделяется веществам, воздействующим на антибиотикоустойчивую микрофлору. Одной из групп таких веществ являются антимикробные пептиды (АМП) – низкомолекулярные полимеры аминокислот, имеющие катионную или амфипатическую природу. Они синтезируются в организме большинства эукариот в ответ на внедрение чужеродных микроорганизмов. К ним относятся дефензины, которые имеют большие перспективы применения в качестве антимикробных препаратов, так как характеризуются высокой противомикробной активностью, безопасностью и отсутствием

формирования с течением времени резистентности [1, 2]. Известно, что АМП являются одними из ключевых молекул врожденного иммунитета и обеспечивают противомикробную защиту организма. Кроме антимикробного действия, АМП проявляют широкий спектр других биологических эффектов, что дает основание причислить их к биомодуляторным соединениям. АМП участвуют в процессах ранозаживления, способны связывать эндотоксины и проявлять противоопухолевое действие. В этой связи АМП являются перспективными молекулами-прототипами для создания новых лекарственных препаратов. Однако основным их

Для корреспонденции:

Базиков Игорь Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»

Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310

Телефон: (8652) 35-2475

E-mail: bazikov@list.ru

Статья поступила 30.08.2019 г., принята к печати 26.09.2019 г.

For correspondence:

Igor A. Bazikov, MD, PhD, DSc, professor, head of the department of microbiology of Stavropol State Medical University

Address: 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation

Phone: (8652) 35-2475

E-mail: bazikov@list.ru

The article was received 30.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

недостатком является высокая стоимость рекомбинантного синтеза АМП для полномасштабного производства конечного продукта.

Встречающиеся в природе пептиды часто не подходят для использования в качестве терапевтических средств, так как имеют ряд недостатков, включая химическую и физическую нестабильность, а также короткий период полураспада в циркулирующей плазме крови. Некоторые из этих недостатков могут быть успешно устранены с помощью методов традиционной конструкции и ряда других разрабатываемых в настоящее время технологий. Предварительно нами разработаны методики инкапсулирования лекарственных веществ в кремнийорганические ниосомы [3–6].

Ранее нами был получен гель, содержащий рекомбинантные синтетические дефензины HNP-1 и HBD-1, инкапсулированные в кремнийорганические наноконтейнеры [7]. Перспективным является использование комбинации эндогенных АМП и низкомолекулярных регуляторных пептидов, участвующих в процессе регенерации. Так, одним из первых препаратов на основе низкомолекулярных пептидов, разрешенных к применению FDA в США, был Becaplermin (Regranex®; Ortho-McNeil Pharmaceutical, Raritan, США), тромбоцитарный фактор роста (PDGF-BB), способный уменьшать время заживления раны. Аналоги кожи (LSE) – еще один класс усовершенствованных препаратов для лечения ран. В настоящее время два препарата одобрены и применяются для лечения диабетической язвы стопы. Это комплексный трансплантат, содержащий как эпидермальные, так и дермальные компоненты – Apligraf (Organogenesis Inc., США), и трансплантат, содержащий эндогенные белки и цитокины дермальной матрицы – Dermagraft (Organogenesis Inc., США). Для улучшения ангиогенеза эффективен Angipars, Regranex® (Smith & Nephew plc., Великобритания), биоактивный гель, содержащий фактор роста тромбоцитов (PDGF).

Целью нашего исследования явилось изучение возможности выделения эндогенных АМП из лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарной массы крови доноров и инкапсулирование их в кремнийорганические ниосомы для дальнейшего изучения антимикробной активности при ранозаживлении, осложненном антибиотикоустойчивыми микроорганизмами.

Материалы и методы

В качестве сырья для получения эндогенных АМП использовали лейкоцитарно-тромбоцитарную массу крови доноров. Отобранная для переработки лейкоцитарно-тромбоцитарная масса проходила вирусологический контроль (на отсутствие HBS-антител к вирусу гепатита В, антител к вирусу гепатита С и ВИЧ), рН ($6,81 \pm 0,23$), содержание аминного азота ($249,90 \pm 36,35$) мг%. Гидролизат получали ферментативным гидролизом с использованием 10 мл стерильного раствора трипсина (ООО «БиолоТ», г. Санкт-Петербург, Россия) на

100 мл гидролизуемой смеси в течение 1 ч в растворе фосфатного буфера рН 7,4. Гидролизат осветляли раствором перекиси водорода с конечной концентрацией 0,6%. Полученный гидролизат пропускали через разделительную колонку, на дне которой находится мелкопористый фильтр с диаметром пор 0,2 мкм и 30 г Сефадекса G-25. Первую фракцию удаляли. Через набухший гель пропускали раствор фосфатного буфера рН 7,4. Отбирали пробу с максимальным содержанием антибактериальных пептидов массой 3–5 кДа. Для определения максимальной концентрации АМП в полученных образцах использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе «Люмахром» (Россия) при $\lambda = 214$ нм. В качестве подвижной фазы использовали фосфатный буфер рН 7,4. Скорость подачи подвижной фазы – 150 мм³/мин. Для построения калибровочной кривой использовали стандарт дефензина-альфа 1 из наборов Cloud-Clone Corp. (США) [8, 9].

В дальнейшем инкапсулировали АМП в кремнийорганические ниосомы и получали ниосомальный гель для изучения его антимикробной активности при ранозаживлении диабетических язв, вызванных антибиотикоустойчивыми микроорганизмами. В полученный раствор АМП поэтапно добавляли 100 мл ПЭГ-12 диметикона и 400 мл воды. Получение ниосом и инкапсулирование в АМП проводили при комнатной температуре и интенсивном механическом перемешивании на шейкере в течение 5–10 мин. Для формирования ниосом более мелких размеров смесь интенсивно перемешивали с использованием гомогенизатора APV (Германия). Для формирования ниосом размерами 80–100 нм ранее полученную дисперсию ниосом с инкапсулированными дефензинами помещали в сосуд для ультразвуковой обработки. Использовали следующий режим озвучивания: частота – 20 кГц, мощность – 200 Вт; время экспозиции – 15 мин. Для сохранения физико-химических характеристик ниосом использовали 50 мл гелеобразователя Covacryl MV 60 в жидком виде, который образовывал трехмерную объемную «сетку» при добавлении 20 мл триэтаноламина. Общий объем геля доводился до 1000 мл очищенной водой [10, 11].

Результаты и обсуждение

На рисунке 1 представлен калибровочный график концентраций АМП (дефензин-альфа 1), где по оси абсцисс указана концентрация АМП, а по оси ординат – площадь пика. Полученную фракцию еще раз стерилизовали фильтрацией через мелкопористые фильтры с диаметром пор 0,2 мкм. На рисунке 2 представлена хроматограмма фракции АМП, полученная без использования разделительной колонки. По оси абсцисс указано время измерения в минутах, а по оси ординат – оптическая плотность (mAU). Помимо дефензина альфа, и другие виды дефензинов в остаточном количестве отражены в таблице 1, где пик 1 – фракция дефензина

Таблица 1. Данные в остаточном количестве: пик 1 – фракция дефензина альфа, 2, 3, 4 – фракции других дефензинов

Пик	Время (мин)	Компонент	Концентрация (мкг/мл)	Высота	Площадь	Полуширина
1	2,52	Дефензин альфа 1	0,038	13,503	288,288	16,907
2	3,27			3,748	74,265	18,617
3	3,82			0,816	26,851	21,490
4	5,61			1,976	30,067	14,199

Таблица 2. Данные хроматограммы после промывки, регенерации и высушивания при использовании разделительной колонки без дополнительной замены Сефадекса G-25

Пик	Время (мин)	Компонент	Концентрация (мкг/мл)	Высота	Площадь	Полуширина
1	0,28			1,249	297,730	17,732
2	2,69	Дефензин альфа 1	0,335	83,363	2574,624	27,460
3	3,32			92,425	1454,809	13,406

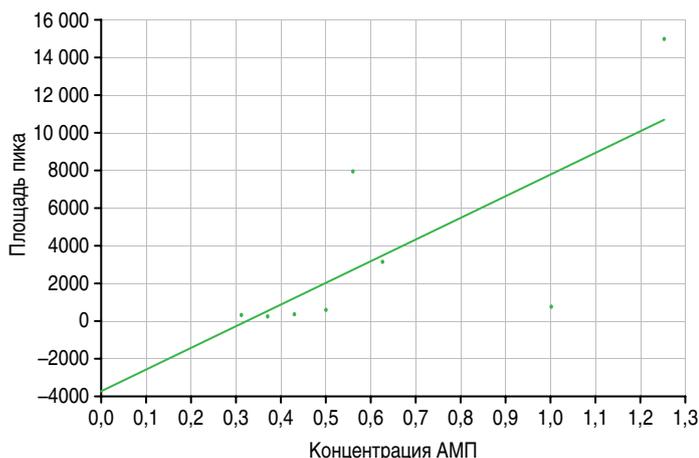


Рис. 1. Калибровочный график концентраций АМП (дефензин-альфа 1).

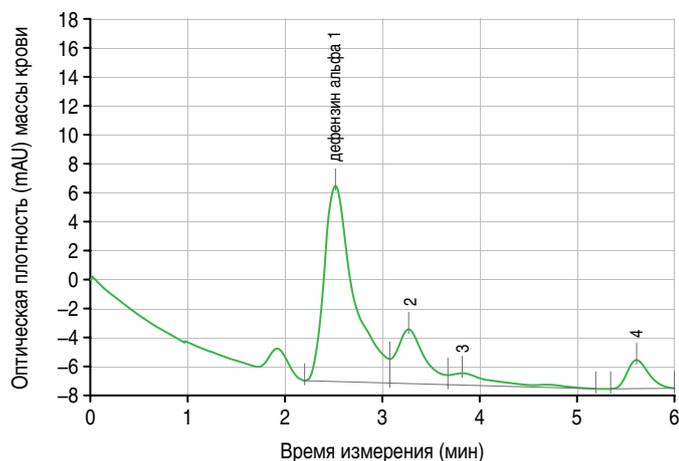


Рис. 2. Хроматограмма фракции АМП, полученная без использования разделительной колонки.

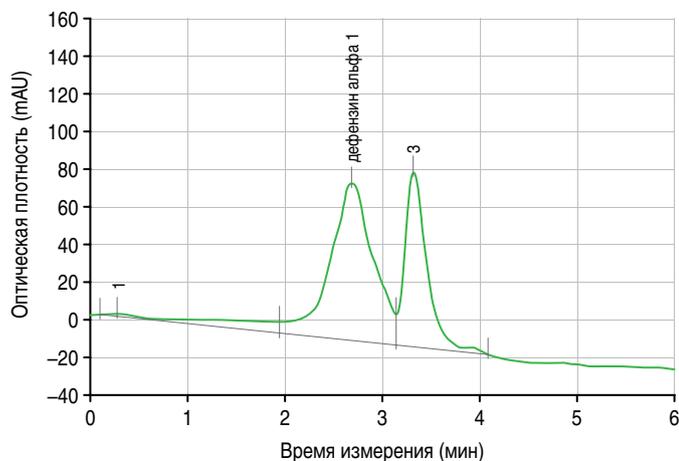


Рис. 3. Хроматограмма фракции АМП после промывки, регенерации и высушивания при использовании разделительной колонки без дополнительной замены Сефадекса G-25.

альфа, а 2, 3, 4 – фракции других дефензинов в остаточном количестве. В дальнейшем полученные пептиды подвергали лиофильному высушиванию. На рисунке 3 представлена хроматограмма фракции АМП после промывки, регенерации и высушивания при использовании разделительной колонки без дополнительной замены Сефадекса G-25. По оси абсцисс указано время измерения в минутах, по оси ординат – оптическая плотность. В таблице 2 отображены данные хроматограммы после промывки.

Из представленных результатов видно, что использование в качестве исходного сырья лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарной массы крови доноров и разделительной колонки с Сефадексом G-25 позволило оптимизировать технологию выделения наиболее полной фракции естественных низкомолекулярных пептидов, содержащих АМП для повышения их биологической ценности и дальнейшего создания фармацевтических композиций.

Способ обеспечивал получение 200 мл фракции, содержащей антимикробные пептиды с концентрацией 0,335 мкг/мл. Применение указанного способа позволяло несколько раз использовать Сефадекс G-25 после промывки, регенерации и высушивания, что в перспективе будет значительно снижать стоимость фармацевтических композиций с содержанием выделенных природных АМП.

Заключение

Таким образом, получен способ выделения природных антимикробных пептидов, содержащий ферментативный гидролиз исходного сырья, пропускание через разделительную колонку с Сефадексом G-25 и последующей стерилизующей фильтрацией полученной субстанции через мелкопористые фильтры с диаметром пор 0,2 мкм, отличающийся тем, что в качестве исходного сырья использовали лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарную массу крови доноров, которую предварительно подвергали гемолизу трипсином, а выделение антимикробных пептидов проводили методом жидкостной хроматографии на разделительной колонке с трехкратным использованием Сефадекса G-25. В последующем АМП инкапсулированы в кремнийорганические иносомы по ранее разработанной методике [9, 10, 11].

Литература

- Larijani B, Hasani SR. Overview of diabetic foot; Novel treatments in diabetic foot ulcer. DARU 2008;16 (Suppl. 1):1-6.
- Ashtikar M, Wacke MG. Nanopharmaceuticals for wound healing – Lost in translation? Adv Drug Deliv Rev. 2018 Apr;129:194-218. DOI: 10.1016/j.addr.2018.03.005
- Базиков ИА, Мальцев АН. Кремнийорганические иносомы с бактерицидными и парамагнитными свойствами. Патент на изобретение RUS 2625722 18.07.2017

4. Базиков ИА, Аксенов АВ, Аксенов НА, Мальцев АН, Смирнов АН. Фармацевтический нисомальный гель на основе вещества п-гидрокси-2-(2-(нафтален-2-ил)-1H-индол-3-ил)-2-фенилацетамид с противоопухолевой активностью к глиобластоме. Патент на изобретение RUS 2627449 04.08.2017
5. Базиков ИА, Аксенов АВ, Мальцев АН, Селимов МА, Корниенко АВ, Аксенов АН, и др. Свойства разработанной нисомальной формы противоопухолевого вещества N-гидроxy-2-(2-(нафthalen-2-yl)-1H-Indol-3-yl)-2-phenylacetamide для лечения глиобластомы. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2016;11(2):196-99. DOI: 10.14300/mnnc.2016.11035
6. Diskaeva EI, Vecher OV, Bazikov IA, Maltsev AN. Dispersion analysis of niosomes different composition. Journal of Nanoparticle Research. 2019;21(1):2049.
7. Bolatchiev AD, Baturin VA, Bazikov IA, Maltsev AN, Kunitsina E. Effect of antimicrobial peptides HNP-1 and hBD-1 on Staphylococcus aureus strains in vitro and in vivo. Fundamental and Clinical Pharmacology. 2019. DOI:10.1111/fcp.12499
8. Мальцев АН, Базиков ИА, Батурин ВА, Ефременко АА, Лысогора ЛВ. Выделение природных антимикробных пептидов из лейкоцитарно-эритроцитарно-тромбоцитарной массы крови. Сборник материалов VI Всероссийской научной-практической конференции с международным участием. М., 29 ноября 2019 г., с. 138.
9. Болатчиев АД, Батурин ВА, Базиков ИА. Антимикробный гель для лечения инфицированных ран, ожогов и трофических язв. Патент на изобретение RUS 2655522 от 28.05.2018
10. Базиков ИА, Мальцев АН, Седых ОИ, Болатчиев АД. Разработка нисомального лекарственного геля с альфа- дефензином hnp-1. В сборнике: Биотехнология: взгляд в будущее. Материалы 4-й международной научно-практической конференции. Ставрополь, 2018, с. 87-89.
11. Bolatchiev AD, Baturin VA, Bazikov IA, Maltsev AN. Effect of niosomal antimicrobial peptide hbd-1 on the healing rate of infected wounds in rats. Медицинский вестник Северного Кавказа. 2018;13(3):515-7. DOI: 10.14300/mnnc.2018.13093
8. Maltsev AN, Bazikov IA, Baturin VA, Efremenko AA, Lysogora LV. Isolation of natural antimicrobial peptides from leukocyte-erythrocyte-platelet blood mass. Proceedings of the VI All-Russian Scientific and Practical Conference with International Participation. Moscow, 29 Nov 2019, p. 138. (In Russian).
9. Bolatchiev AD, Baturin VA, Bazikov IA. Antimicrobial gel for treatment of infected wounds, burns and trophic ulcers. Patent for the invention RUS 2655522 dated 28.05.2018. (In Russian).
10. Bazikov IA, Maltsev AN, Sedykh OI, Bolatchiev AD. Development of niosomal drug gel with alpha- defensin hnp-1. In: Biotechnology: a look to the future. Proceedings of the 4th International Scientific and Practical Conference. Stavropol, 2018, pp. 87-89. (In Russian).
11. Bolatchiev AD, Baturin VA, Bazikov IA, Maltsev AN. Effect of niosomal antimicrobial peptide hbd-1 on the healing rate of infected wounds in rats. Medical News of North Caucasus. 2018;13(3):515-7. DOI: 10.14300/mnnc.2018.13093

Информация об авторах:

Мальцев Александр Николаевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник, заведующий лабораторией биологически активных веществ и нанотехнологий Центра фармакологии, морфологии и биотехнологии научно-инновационного объединения ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Адрес: 355017, г. Ставрополь, ул. Мира, 310
Телефон: (8652) 35-2475

Седых Ольга Ивановна, младший научный сотрудник лаборатории биологически активных веществ и нанотехнологий Центра фармакологии, морфологии и биотехнологии научно-инновационного объединения ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310
Телефон: (8652) 35-2475

Батурин Владимир Александрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической фармакологии, аллергологии и иммунологии с курсом ПДО, ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310
Телефон: (8652) 71-3466

Болатчиев Альберт Добаевич, аспирант, ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310
Телефон: (8652) 35-2475

Ефременко Анна Александровна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Ставропольский государственный медицинский университет»
Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Мира, 310
Телефон: (8652) 35-2475

Information about authors:

Alexander N. Maltsev, PhD (in Biology), researcher, head of the laboratory of biologically active substances and nanotechnologies of the Center of Pharmacology, Morphology and Biotechnology of the Scientific and Innovative Association, Stavropol State Medical University
Address: 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation
Phone: (8652) 35-2475

Olga I. Sedykh, associate researcher of the laboratory of biologically active substances and nanotechnologies of the Center of Pharmacology, Morphology and Biotechnology of the Scientific and Innovative Association, Stavropol State Medical University
Address: 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation
Phone: (8652) 35-2475

Vladimir A. Baturin, MD, PhD, DSc, professor, head of the department of clinical pharmacology, allergology and immunology, Stavropol State Medical University
Address: 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation
Phone: (8652) 71-3466

Albert D. Bolatchiev, postgraduate student, Stavropol State Medical University
Address: 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation
Phone: (8652) 35-2475

Anna A. Efremenko, MD, PhD, associate professor of the department of microbiology, Stavropol State Medical University
Address: 310 Mira str., Stavropol, 355017, Russian Federation
Phone: (8652) 35-2475

References

1. Larijani B, Hasani SR. Overview of diabetic foot; Novel treatments in diabetic foot ulcer. DARU 2008;16 (Suppl. 1):1-6.
2. Ashtikar M, Wacke MG. Nanopharmaceuticals for wound healing – Lost in translation? Adv Drug Deliv Rev. 2018 Apr;129:194-218. DOI: 10.1016/j.addr.2018.03.005
3. Bazikov IA, Maltsev AN. Silicone niosomes with bactericidal and paramagnetic properties. Patent for invention RUS 2625722 18.07.2017 (In Russian).
4. Bazikov IA, Aksenov AV, Aksenov NA, Maltsev AN, Smirnov AN. Pharmaceutical niosomal gel on the basis of the substance n-hydroxy-2-(2-(naphthalen-2-yl)-1H-Indol-3-yl)-2-phenylacetamide with the antineoplastic activity to the glioblastoma. Patent for invention RUS 2627449 04.08.2017 (In Russian).
5. Bazikov IA, Aksenov AV, Selimov MA, Aksenov NA, Maltsev AN, Kornienko AV, et al. Properties of developed niosomal forms of anticancer substances N-hydroxy-2-(2-(naphthalen-2-yl)-1H-Indol-3-yl)-2-phenylacetamide in treatment of glioblastoma. Medical News of North Caucasus. 2016;11(2):196-99. DOI: 10.14300/mnnc.2016.11035 (In Russian).
6. Diskaeva EI, Vecher OV, Bazikov IA, Maltsev AN. Dispersion analysis of niosomes different composition. Journal of Nanoparticle Research. 2019;21(1):2049.
7. Bolatchiev AD, Baturin VA, Bazikov IA, Maltsev AN, Kunitsina E. Effect of antimicrobial peptides HNP-1 and hBD-1 on Staphylococcus aureus strains in vitro and in vivo. Fundamental and Clinical Pharmacology. 2019. DOI:10.1111/fcp.12499

Применение бактериофагов для фаготерапии и фагопрофилактики резистентных к антимикробным препаратам штаммов *Pseudomonas aeruginosa* у пациентов с наружными отитами

Л.Т.Баязитова^{1,2}, О.Ф.Тюпкина¹, Т.А.Чазова¹, К.Н.Сюзев²,
Н.С.Конышев², Р.И.Валиева^{1,2}, Г.Ш.Исаева^{1,2}, Е.М.Покровская³

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

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

³ФГАУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Институт фундаментальной медицины и биологии, Казань, Российская Федерация

У пациентов с частыми обострениями наружного отита регистрируется колонизация наружных слуховых проходов бактериями *Pseudomonas aeruginosa*. В последние годы наблюдается тенденция к увеличению численности полирезистентных штаммов синегнойной палочки, персистирующих в наружных слуховых проходах у пациентов с наружными отитами. Это обуславливает необходимость дифференцированного подхода к антимикробному лечению. В работе представлены результаты изучения спектра литической активности коммерческих бактериофагов в отношении антибиотикоустойчивых клинических изолятов *P. aeruginosa*, выделенных у пациентов с наружными отитами.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, наружный отит, бактериофаги, чувствительность к антибиотикам

Для цитирования: Баязитова Л.Т., Тюпкина О.Ф., Чазова Т.А., Сюзев К.Н., Коньшев Н.С., Валиева Р.И., Исаева Г.Ш., Покровская Е.М. Применение бактериофагов для фаготерапии и фагопрофилактики резистентных к антимикробным препаратам штаммов *Pseudomonas aeruginosa* у пациентов с наружными отитами. Бактериология. 2019; 4(3): 18–23. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-18-23

Application of bacteriophages for phagotherapy and phagoprophylaxis of anti-microbial resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in patients with external otitis

L.T.Bayazitova^{1,2}, O.F.Tyupkina¹, T.A.Chazova¹, K.N.Suzev²,
N.S.Konyshev², R.I.Valieva^{1,2}, G.Sh.Isaeva^{1,2}, E.M.Pokrovskaya³

¹Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Federal Service for Surveillance in the Sphere of Consumers Rights Protection and Human Welfare of Russian Federation, Kazan, Russian Federation;

²Kazan State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Kazan, Russian Federation;

³Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga) Federal University, Kazan, Russian Federation

Colonization of the external auditory canals with *Pseudomonas aeruginosa* are recorded by the patients with frequent exacerbations of external otitis media. Trend to increase the number of multidrug-resistant strains *Pseudomonas aeruginosa* persist in the external auditory canals in patients with external otitis media has observed in recent years. This determines the need for a differentiated approach to antimicrobial treatment. The results of studying the spectrum of lytic activity of commercial bacteriophages in relation to antibiotic-resistant clinical isolates of *P. aeruginosa* isolated in patients with otitis external are represented in this article.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, otitis externa, bacteriophages, sensitivity to antibiotics

For citation: Bayazitova L.T., Tyupkina O.F., Chazova T.A., Suzev K.N., Konyshev N.S., Valieva R.I., Isaeva G.Sh., Pokrovskaya E.M. Application of bacteriophages for phagotherapy and phagoprophylaxis of anti-microbial resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in patients with external otitis. Bacteriology. 2019; 4(3): 18–23. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-18-23

Для корреспонденции:

Исаева Гузель Шавхатовна, доктор медицинских наук, заместитель директора по инновационному развитию ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора; заведующая кафедрой микробиологии им. академика В.М.Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»

Адрес: 420015, Казань, ул. Б. Красная, 67

Телефон: (843) 236-6721

E-mail: guisaeva@rambler.ru

Статья поступила 19.08.2019 г., принята к печати 26.09.2019 г.

For correspondence:

Guzel Sh. Isaeva, MD, PhD, DSc, professor, deputy director for innovative development, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Rosпотребнадзор; head of the department of microbiology named after Academician V.M.Aristovskiy, Kazan State Medical University

Address: 67 B. Krasnaya str., Kazan, 420015, Russian Federation

Phone: (843) 236-6721

E-mail: guisaeva@rambler.ru

The article was received 19.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

P*seudomonas aeruginosa* относится к условно-патогенным микроорганизмам, но при этом обладает мощным патогенным потенциалом и входит в группу микроорганизмов, обозначенных Американским обществом по инфекционным болезням (Infectious Diseases Society of America, IDSA) как ESCAPE-патогены [1]. *P. aeruginosa* распространена в окружающей среде, особенно в местах скопления влаги, колонизирует влажные участки тела (промежность, подмышечные впадины, ушные раковины, слизистые оболочки полости носа, ротоглотки, желудочно-кишечный тракт), поверхности объектов больничной среды, лечебно-диагностического оборудования, кожи, слизистых оболочек и одежды медицинского персонала. Синегнойная палочка – наиболее распространенный возбудитель инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). Экзогенные синегнойные инфекции составляют 59,5% от всех инфекций у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) [2]. В условиях стационара формируются устойчивые экосистемы «бактерии-фаги», функционирование которых приводит к формированию штаммов микроорганизмов с определенными биологическими свойствами, в том числе фагорезистентностью [3].

P. aeruginosa является ведущим возбудителем при наружных отитах, ее доля составляет до 38% в общей структуре возбудителей отита [4, 5]. При начальных стадиях имеются только незначительные клинические проявления, но при отсутствии лечения инфекция прогрессирует и распространяется на ушную раковину, околоушные слюнные железы, среднее и внутреннее ухо и может привести к развитию менингита и отогенных абсцессов головного мозга [6]. В ряде случаев наружный отит, вызванный синегнойной палочкой, переходит в остеомиелит височной кости, приобретая злокачественный характер.

Вследствие постоянного воздействия антимикробных препаратов («селективный прессинг») клинические изоляты синегнойной палочки становятся мультирезистентными, что усложняет адекватную эмпирическую терапию и приводит к росту летальности, увеличению длительности госпитализации, необходимости множественных инвазивных лечебно-диагностических манипуляций и экономическим потерям. Вертикальное и горизонтальное распространение генов антибиотикорезистентности, важнейшими из которых являются гены приобретенных металло-бета-лактамаз (МБЛ) приводит к увеличению численности клонов «высокого эпидемического риска» [7]. Сцепление генов МБЛ с другими генами устойчивости способствует формированию экстремальной антибиотикорезистентности, т.е. устойчивости, по крайней мере, к одному антибиотику практически во всех классах антимикробных препаратов, за исключением 1–2 классов [8]. Поэтому особую актуальность приобретает локальный микробиологический мониторинг за циркуляцией штаммов синегнойной палочки и подбор альтернативных препаратов. Согласно «Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года» создание новых классов антибактериальных средств является важнейшей задачей [9].

Одним из инновационных методов борьбы с патогенными бактериями являются вирулентные бактериофаги с широ-

ким спектром литической активности, элиминирующие как чувствительные к антибиотикам, так и лекарственно-устойчивые штаммы бактерий. Эти биологические препараты обладают рядом достоинств: 1) высокоспецифичны, что позволяет устранить возбудителя инфекции, не нарушая микробную флору; 2) способны к самовоспроизведению; 3) возможно комплексное применение с другими лекарственными препаратами; 4) высокостабильны и могут храниться длительное время [10, 11].

Цель исследования: оценка профиля антибиотикорезистентности и спектра литической активности коммерческих бактериофагов в отношении клинических изолятов *P. aeruginosa*, выделенных у пациентов с наружными отитами.

Материалы и методы

Проведено микробиологическое исследование биоматериала с наружного уха за 2010–2018 гг. ($n = 304$). Использовали питательные среды: 5% кровяной агар, мясо-пептонный агар, агар Сабуро, желточно-солевой агар и среду Эндо. Идентификацию микроорганизмов осуществляли согласно действующим нормативным документам. Тестирование антибиотикорезистентности и интерпретацию результатов проводили согласно Клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (версия 2015)», EUCAST (2015 г.). Определение диапазона действия бактериофагов в отношении клинических изолятов микроорганизмов проводилось капельным методом (спот-тест) на агаре Мюллера–Хинтона (HiMedia, Индия). Для приготовления инокулюма (оптическая плотность 0,5 по МакФарланду) использовали чистые суточные культуры. После инокуляции чашки подсушивали в течение 10–15 мин и наносили препараты бактериофагов в объеме 20 мкл каждого, посева инкубировали 18–20 ч при температуре 35°C. В исследование включены препараты бактериофагов производства НПО «Микроген»: Пиобактериофаг поливалентный «Секстафаг» (г. Пермь) и Интести–бактериофаг (г. Нижний Новгород). Оценка литической активности фага проводилась по пятибалльной шкале (по количеству «крестов»): «–» – отсутствие литической активности; «+» – низкая активность; «2+» – образование зоны лизиса с большим количеством колоний вторичного роста бактерии; «3+» – зона лизиса с единичными колониями вторичного роста; «4+» – прозрачная зона лизиса без колоний вторичного роста. Для точного определения числа фагов в единице объема использовали метод Грация, основанный на подсчете количества образуемых стерильных пятен (негативных колоний или бляшкообразующих единиц).

Результаты и обсуждение

При посеве материала, полученного из наружных слуховых проходов у больных с наружными отитами, рост *P. aeruginosa* наблюдался у 29,8% пациентов. Рост данного патогена регистрировался как в монокультуре (14,5%), так и в составе полибактериальных и бактериально-грибковых ассоциаций. В качестве компонента в бактериальных ассоциациях доля синегнойной палочки составила 12,8%.

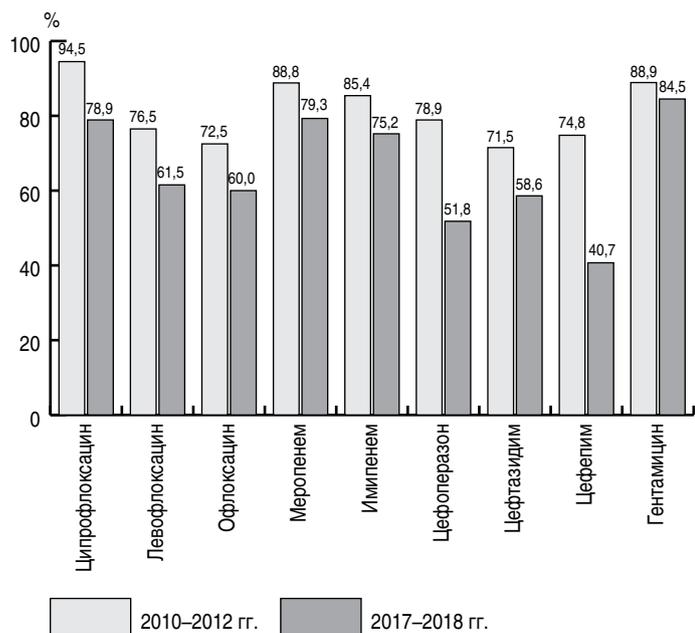


Рис. 1. Результаты чувствительности к антибиотикам изолятов синегнойной палочки, выделенных в 2010–2012 гг. и 2017–2018 гг., %.

Рост синегнойной палочки из отделяемого уха в составе ассоциации с грибами рода *Candida* наблюдался у 9,7% больных.

Проанализированы результаты определения профиля чувствительности к антимикробным препаратам штаммов синегнойной палочки, выделенных в 2010–2012 гг. (группа 1) и в 2017–2018 гг. (группа 2) (рис. 1). Наиболее эффективным антисинегнойным препаратом из группы фторхинолонов проявил себя ципрофлоксацин (94,5% чувствительных штаммов); доля левифлоксацин-чувствительных изолятов составила 76,5%; офлоксацин-чувствительных

штаммов – 72,4%. Достаточно высокий уровень активности был выявлен у карбапенемов: в 2010–2012 гг. выделялось 88,8% меропенем-чувствительных штаммов; к имипенему были чувствительны 85,4% культур. Эффективность антисинегнойных препаратов из группы цефалоспоринов в 2010–2012 гг. была распределена в следующей последовательности: цефоперазон (78,9% чувствительности) > цефтазидим (75,%) > цефепим (74,8%). Количество гентамицин-чувствительных штаммов в 2010-2012 гг. составило 88,9%, азлоциллин-чувствительных – 72,9%.

В 2017–2018 годы отмечен рост количества резистентных к антимикробным препаратам штаммов синегнойной палочки. Так, наблюдается снижение чувствительности к ципрофлоксацину до 78,9%; к левифлоксацину – до 61,5%; к офлоксацину – до 60,0%. Отмечено снижение антисинегнойной активности карбапенемов: к меропенему были чувствительны 79,3% культур; к имипенему – 76,1%. Выявлено резкое снижение эффективности цефалоспориновых антибиотиков: доля цефоперазон-чувствительных изолятов составила 51,8%; численность цефтазидим-чувствительных культур – 58,6%. Наиболее резкое снижение эффективности отмечено у цефепима: менее половины обследованных культур оказались чувствительными к цефепиму (40,7%). Количество штаммов, чувствительных к гентамицину снизилось незначительно, и составило 84,5%. Выявлен рост удельного веса полирезистентных штаммов синегнойной палочки, высеваемых с наружного слухового прохода (резистентность к 3 и более антимикробным препаратам). За 2010–2012 гг. выделено 12 таких изолятов, в 2017–2018 гг. обнаружено 17 полирезистентных штаммов.

На втором этапе исследования изучалась чувствительность клинических изолятов *P. aeruginosa*, выделенных в 2017–2018 гг., к бактериофагам. В качестве альтернативных препаратов были подобраны бактериофаги с заявленной антисинегнойной активностью: Пиобактериофаг полива-

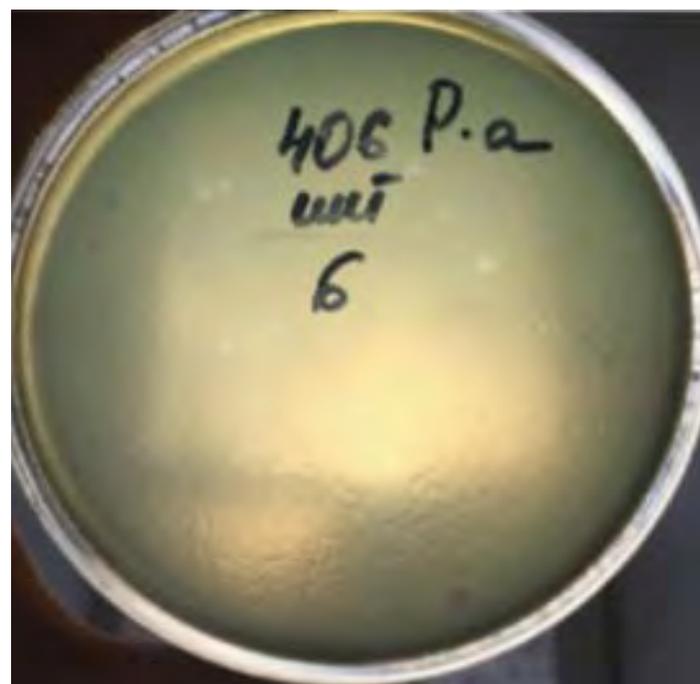
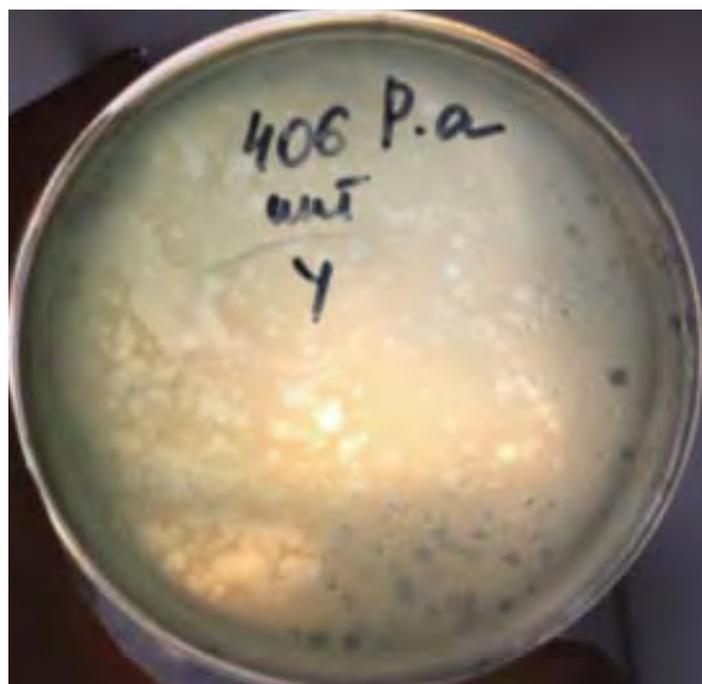


Рис. 2. Определение количества образуемых стерильных пятен в 1 мл Интести-бактериофага при различных разведениях (10^4 и 10^6).

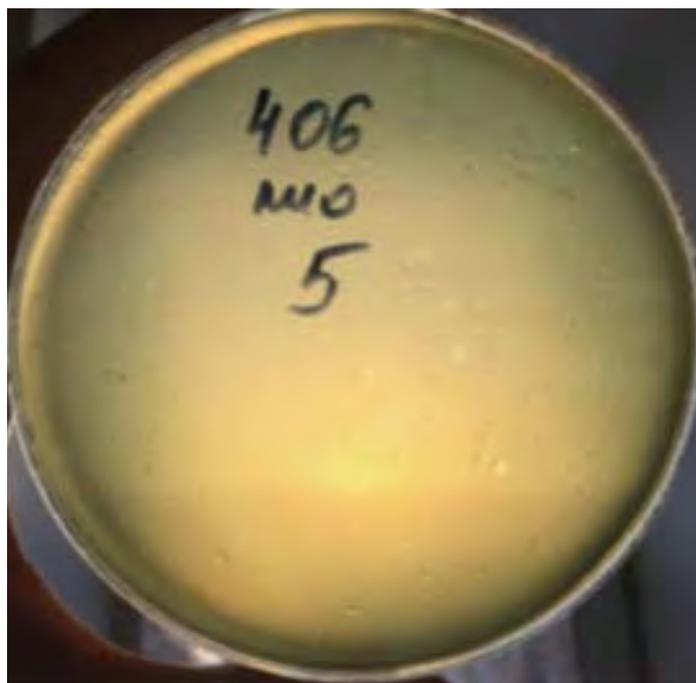
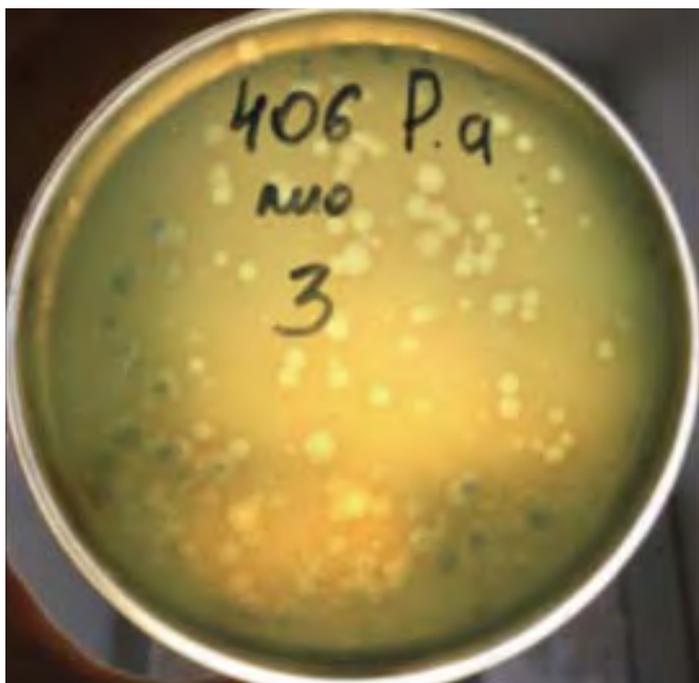


Рис. 3. Определение количества образуемых стерильных пятен в 1 мл полибактериофага поливалентного «Секстафаг» при различных разведениях (10^3 и 10^5).

лентный «Секстафаг» (г. Пермь) и Интести-бактериофаг (г. Нижний Новгород).

Результаты скрининга чувствительности к бактериофагам (спот-тест): 84,3% штаммов *P. aeruginosa* лизировались Интести-бактериофагом (чувствительность 4+ и 3+); 79,4% – пиобактериофагом «Секстафаг» (чувствительность 4+ и 3+). Путем подсчета количества образуемых стерильных пятен и вычисления средней арифметической величины обнаружили в 1 мл Интести-бактериофага $3,62 \times 10^6$ активных фаговых частиц (рис. 2); в 1 мл поливалентного пиобактериофага «Секстафаг» – $2,63 \times 10^5$ (рис. 3).

У пациентов с хронической формой инфекции, с частыми обострениями наружного отита регистрируется колонизация синегнойной палочкой наружных слуховых проходов. Это обуславливает необходимость дифференцированного подхода к лечению больного, основанного на предварительном микробиологическом исследовании.

Анализ результатов определения профиля чувствительности к антимикробным препаратам штаммов синегнойной палочки, выделенных в 2010–2012 гг. и выделенных в период с 2017 г. по 2018 г., показал снижение чувствительности ко всем группам антисинегнойных препаратов, используемых в эмпирической терапии наружных отитов. Наиболее резкое снижение эффективности характерно для цефалоспориновых антибиотиков: к цефепиму отмечено снижение активности на 34,1%; к цефоперазону – на 27,1%; к цефтазидиму – на 16,5%. Количество изолятов, чувствительных к фторхинолонам, уменьшилось на 15,6–12,0%. Активность изолятов к гентамицину за исследуемый период времени снизилась незначительно и составила 4,4%. Настораживает тенденция к увеличению численности полирезистентных штаммов синегнойной палочки, персистирующих в наружных слуховых проходах у пациентов с наружными отитами.

Изучение чувствительности к бактериофагам с заявленной антисинегнойной активностью показало, что 84,3% штаммов *P. aeruginosa* лизировались Интести-бактериофагом и 79,4% – пиобактериофагом «Секстафаг». Количественная оценка литической активности бактериофагов показала высокую активность исследуемых бактериофагов, что позволяет рекомендовать их использование для эрадикации *P. aeruginosa* у пациентов с наружными отитами.

Успех фаготерапии напрямую зависит от эффективности применяемых препаратов. Одним из ключевых критериев успешной фаготерапии является использование вирулентных бактериофагов, обладающих полным лизисом бактерии – возбудителя инфекционного заболевания. В эпоху развития мульти- и пан-резистентности бактерий к антибиотикам и химиотерапевтическим препаратам внимание многих исследователей обращено к фаготерапии и поиску новых препаратов, созданных на их основе. Так, Melo A.C.C. et al. (2019) выделили из сточных вод и охарактеризовали новый бактериофаг, названный *Pseudomonas* phage BrSP1. Результаты биотестов *in vitro* на клинических штаммах *P. aeruginosa* показали, что этот вирулентный бактериофаг может быть включен в коктейль для лечения инфекций, вызванных данным видом [12].

Умеренные бактериофаги, циркулирующие в стационарах, способствуют формированию госпитальных штаммов с выраженными «негативными» свойствами, обладающими повышенной склонностью к эпидемическому распространению, способными вызывать вспышки ИСМП, трудно поддающиеся купированию традиционными противоэпидемическими мероприятиями. В настоящее время известно, что множество факторов патогенности у бактерий закодировано профаговыми генами. У некоторых бактерий (*V. cholerae*, *C. diphtheriae* и *C. botulinum*) токсины, играющие ведущую роль в патогенезе и вызывающие характерные симптомы

инфекционного заболевания, обусловлены профагами [13]. Многие факторы патогенности штаммов *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. typhimurium*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* и *P. mirabilis* кодируются генами, расположенными в профагах. Каждый из этих факторов вносит вклад в способность к паразитизму в организме человека лизогенной бактерии. У синегнойной палочки описаны последовательности генома умеренного фага, индуцированного из штамма *P. aeruginosa*, выделенного от больного с внутрибольничной инфекцией мочевыводящих путей [14]. Под действием встроенных профагов, несущих дополнительные гены патогенности, условно-патогенная *P. aeruginosa* может изменять свой патогенный потенциал и способность колонизировать не свойственные для нее биотопы, что обуславливает развитие инфекционного процесса.

Последние исследования указывают на эффективность фаготерапии для лечения мультирезистентных штаммов *P. aeruginosa* [15]. Выбор фага для лечения бактериальной инфекции должен основываться на результатах тестирования активности препарата в микробиологической лаборатории. При назначении бактериофага допускается использование препарата, обладающего литической активностью не менее «4+».

Генетические рекомбинации и мутации, происходящие в штаммах возбудителей ИСМП, влекут за собой необходимость динамического мониторинга чувствительности используемых бактериофагов и внесения изменений в штаммовый состав фагового коктейля для поддержания необходимого уровня его спектра литической активности. Оценка литической активности фага перед использованием особенно актуальна, учитывая высокую распространенность фагорезистентных штаммов в популяциях микроорганизмов – возбудителей ИСМП.

Литература

- Peterson LR. Bad bugs, no drugs: no ESCAPE revisited. Clin Infect Dis. 2009 Sep 15;49(6):992-3. DOI: 10.1086/605539
- Agodi A, Barchitta M, Cipresso R, Giaquinta L, Romeo MA, Denaro C. *Pseudomonas aeruginosa* carriage, colonization, and infection in ICU patients. Intensive Care Med. 2007 Jul;33(7):1155-1161. DOI: 10.1007/s00134-007-0671-6. Epub 2007 May 15
- Зуева ЛП, Асланов БИ, Долгий АА, Гончаров АЕ, Архангельский АИ. Бактериофаги – факторы эволюции госпитальных штаммов и средства борьбы с инфекциями. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 2012;1:9-13.
- Мосихин СБ, Решль ЛИ, Безбрыков АВ, Покровская ЕМ, Баязитова ЛТ. Микрофлора слухового прохода при наружных отитах. Практическая медицина. 2016;2(94):18-24.
- Красножен ВН, Покровская ЕМ, Баязитова ЛТ. Исследование антибактериальной активности «Полидекса» и характеристика микрофлоры у больных с наружным отитом. Вестник оториноларингологии. 2018;83(1):65-67. DOI: 10.17116/otorino201883165-67
- Крюков АИ, Гуров АВ, Изотова ГН, Лучшева ЮВ, Шадрин ГБ, Кравчук АП. Ограниченный наружный отит – дифференциальная диагностика и подходы к терапии. Медицинский совет. 2015;3:60-4.
- Vestergaard M, Paulander W, Marvig RL, Clasen J, Jochumsen N, Molin S, et al. Antibiotic combination therapy can select for broad-spectrum multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Antimicrob Agents. 2016 Jan;47(1):48-55. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.09.014.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012 Mar;18(3):268-81. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
- Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года». Доступно по: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71677266/>
- Асланов БИ, Долгий АА, Гончаров АЕ, Сагиева НР, Крицкая ИВ, Шалапина НА. Оценка спектра генов вирулентности у инфекционных агентов-штаммов *Pseudomonas* spp. Профилактическая и клиническая медицина. 2013;1(46):63-65.
- Johnson G, Wolfe AJ, Putonti C. Characterization of the ϕ CTX-like *Pseudomonas aeruginosa* phage Dobby isolated from the kidney stone microbiota. Access Microbiol. 2019;1(1). DOI: 10.1099/acmi.0.000002
- de Melo ACC, da Mata Gomes A, Melo FL, Ardisson-Araújo DMP, de Vargas APC, Ely VL, et al. Characterization of a bacteriophage with broad host range against strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from domestic animals. BMC Microbiol. 2019 Jun 17;19(1):134. DOI: 10.1186/s12866-019-1481-z
- Bochkareva SS, Aleshkin AV, Ershova ON, Karaulov AV, Zeigarnik MV, Aleshkin AV, et al. Anti-phage antibody response in phage therapy against healthcare-associated infections (HAIs). Infekc. bolezni (Infectious diseases). 2017;15(1):35-40. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-1-35-40
- Johnson G, Putonti C. Genome Sequence of *Pseudomonas* Phage UMP151, Isolated from the Female Bladder Microbiota. Microbiol Resour Announc. 2019 Aug 15;8(33). pii: e00853-19. DOI: 10.1128/MRA.00853-19
- Jalil MB, Al-Hmudi HA, Al-Asaad LA, Abdul-Hussein ZR. Isolation and characterization of bacteriophages against multiple drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* with using the bacteriophage as a therapy in the mice model. Int J Dev Res 7:11519.

References

- Peterson LR. Bad bugs, no drugs: no ESCAPE revisited. Clin Infect Dis. 2009 Sep 15;49(6):992-3. DOI: 10.1086/605539
- Agodi A, Barchitta M, Cipresso R, Giaquinta L, Romeo MA, Denaro C. *Pseudomonas aeruginosa* carriage, colonization, and infection in ICU patients. Intensive Care Med. 2007 Jul;33(7):1155-1161. DOI: 10.1007/s00134-007-0671-6. Epub 2007 May 15
- Zuyeva LP, Aslanov BI, Dolgiy AA, Goncharov AE, Arkhangelsky AI. Bacteriophages are factors for evolution of nosocomial strains and means for combating infections. Epidemiologiâ i infekcionnye bolezni. Aktual'nye voprosy (Epidemiology and Infectious Diseases. Current Items). 2012;1:9-13. (In Russian).
- Mosikhin SB, Reshel LI, Bezbrayzov AV, Pokrovskaya EM, Bayazitova LT. Microflora of auditory canal in case of otitis externa. Practical medicine. 2016; 2(94):18-24. (In Russian).
- Krasnozhen VN, Pokrovskaya EM, Bayazitova LT. The species composition and sensitivity of pathogenic microflora responsible for the development of otitis externa diffusa to the components of Polidexa. Bulletin of Otorhinolaryngology (Vestnik otorinolaringologii). 2018;83(1):65-67. DOI: 10.17116/otorino201883165-67 (In Russian).
- Kryukov AI, Gurov AV, Izotova GN, Luchsheva YV, Shadrin GB, Kravchuk AP. Furuncular otitis externa: differential diagnosis and treatment approaches. Medical Council (Meditsinskiy sovet) 2015;3:60-4. (In Russian).
- Vestergaard M, Paulander W, Marvig RL, Clasen J, Jochumsen N, Molin S, et al. Antibiotic combination therapy can select for broad-spectrum multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Int J Antimicrob Agents. 2016 Jan;47(1):48-55. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.09.014.
- Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria:

- an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. Clin Microbiol Infect. 2012 Mar;18(3):268-81. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
9. Strategy for preventing the spread of antimicrobial resistance in the Russian Federation for the period up to 2030. Available at: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71677266/> (In Russian).
10. Aslanov BI, Dolgiy AA, Goncharov AE, Sagieva NR, Kritskaya IV, Shalyapina NA. Evaluation of virulence genes in infectious agents – strains of *Pseudomonas* sp. Preventive and Clinical Medicine. 2013;1(46):63-65. (In Russian).
11. Johnson G, Wolfe AJ, Putonti C. Characterization of the ϕ CTX-like *Pseudomonas aeruginosa* phage Dobby isolated from the kidney stone microbiota. Access Microbiol. 2019;1(1). DOI: 10.1099/acmi.0.000002
12. de Melo ACC, da Mata Gomes A, Melo FL, Ardisson-Araújo DMP, de Vargas APC, Ely VL, et al. Characterization of a bacteriophage with broad host range against strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from domestic animals. BMC Microbiol. 2019 Jun 17;19(1):134. DOI: 10.1186/s12866-019-1481-z
13. Bochkareva SS, Aleshkin AV, Ershova ON, Karaulov AV, Zeigarnik MV, Aleshkin AV, et al. Anti-phage antibody response in phage therapy against healthcare-associated infections (HAIs). Infekc. bolezni (Infectious diseases). 2017;15(1):35-40. DOI: 10.20953/1729-9225-2017-1-35-40
14. Johnson G, Putonti C. Genome Sequence of *Pseudomonas* Phage UMP151, Isolated from the Female Bladder Microbiota. Microbiol Resour Announc. 2019 Aug 15;8(33). pii: e00853-19. DOI: 10.1128/MRA.00853-19
15. Jalil MB, Al-Hmudi HA, Al-Asaad LA, Abdul-Hussein ZR. Isolation and characterization of bacteriophages against multiple drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* with using the bacteriophage as a therapy in the mice model. Int J Dev Res 7:11519.
-
- Информация об авторах:**
- Баязитова Лира Табрисовна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией микробиологии ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора; доцент кафедры микробиологии им. академика В.М.Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»
Адрес: 420015, Казань, ул. Б. Красная, 67
Телефон: (843) 236-5587
E-mail: bajalt@mail.ru
- Тюпкина Ольга Феликсовна, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора
Адрес: 420015, Казань, ул. Б. Красная, 67
Телефон: (843) 236-5587
E-mail: olft1962t@gmail.com
- Чазова Татьяна Александровна, младший научный сотрудник лаборатории микробиологии ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора
Адрес: 420015, Казань, ул. Б. Красная, 67
Телефон: (843) 236-5587
E-mail: Tatiana.chazova.1970@gmail.com
- Сюзев Кирилл Николаевич, студент ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»
Адрес: 420012, Казань, ул. Бултерова, 49
E-mail: grop2019@gmail.com
- Конышев Никита Сергеевич, студент ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет»
Адрес: 420012, Казань, ул. Бултерова, 49
E-mail: nikitonix174@yandex.ru
- Валиева Рита Илнуровна, младший научный сотрудник лаборатории микробиологии ФБУН «Казанский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии» Роспотребнадзора; ассистент кафедры микробиологии им. академика В.М.Аристовского ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ
Адрес: 420015, Казань, ул. Б. Красная, 67
Телефон: (843) 236-5587
E-mail: valievarita@yandex.ru
- Покровская Елена Михайловна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры хирургии, акушерства и гинекологии Института фундаментальной медицины и биологии (ИФМИБ) ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет»
Адрес: 420012, Казань, ул. Маркса, 74
Телефон: (843) 233-7109
E-mail: epokrunia@inbox.ru
-
- Information about authors:**
- Lira T. Bayazitova, MD, PhD, head of the laboratory of microbiology, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; associate professor, V.M.Aristovsky department of microbiology, Kazan State Medical University
Address: 67 B. Krasnaya str., Kazan, 420015, Russian Federation
Phone: (843) 236-5587
E-mail: bajalt@mail.ru
- Olga F. Tyupkina, researcher of the laboratory of microbiology Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology
Address: 67 B. Krasnaya str., Kazan, 420015, Russian Federation
Phone: (843) 236-5587
E-mail: olft1962t@gmail.com
- Tatyana A. Chazova, junior research associate, laboratory of microbiology, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology
Address: 67 B. Krasnaya str., Kazan, 420015, Russian Federation
Phone: (843) 236-5587
E-mail: Tatiana.chazova.1970@gmail.com
- Kirill N. Syuzev, Student, Kazan State Medical University
Address: 49 Butlerov str., Kazan, 420012, Russian Federation
E-mail: grop2019@gmail.com
- Nikita S. Konyshev, Student, Kazan State Medical University
Address: 49 Butlerov str., Kazan, 420012, Russian Federation
E-mail: nikitonix174@yandex.ru
- Rita I. Valieva, junior research associate, laboratory of microbiology, Kazan Research Institute of Epidemiology and Microbiology; assistant, V.M.Aristovsky department of microbiology, Kazan State Medical University
Address: 67 B. Krasnaya str., Kazan, 420015, Russian Federation
Phone: (843) 236-5587
E-mail: valievarita@yandex.ru
- Elena M. Pokrovskaya, MD, PhD, associate professor, department of surgery, obstetrics and gynecology, Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan Federal University
Address: 74 Marks str., Kazan, 420012, Russian Federation
Phone: (843) 233-7109
E-mail: epokrunia@inbox.ru

Оценка качества Бордетелагара – питательной среды для культивирования и выделения бордетелл

Я.В.Подкопаев¹, Л.В.Домотенко¹, А.П.Шепелин¹, М.В.Храмов¹, О.Ю.Борисова², А.С.Пименова², Н.Т.Гадуа²

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

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

Проведена оценка качества Бордетелагара в сравнительных и межучрежденческих испытаниях с использованием музейных штаммов *B. pertussis*, *B. parapertussis*, *B. bronchiseptica*. В ходе сравнительного изучения биологических показателей качества Бордетелагара и иностранных коммерческих питательных сред для выделения и культивирования *B. pertussis* установлено, что Бордетелагар не уступает по ростовым свойствам иностранным аналогам. В результате межучрежденческих испытаний установлено, что Бордетелагар полностью отвечает требованиям действующих нормативных документов по диагностике коклюша и паракоклюша.

Ключевые слова: Бордетелагар, коклюш, *Bordetella pertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bordetella parapertussis*, питательные среды

Для цитирования: Подкопаев Я.В., Домотенко Л.В., Шепелин А.П., Храмов М.В., Борисова О.Ю., Пименова А.С., Гадуа Н.Т. Оценка качества Бордетелагара – питательной среды для культивирования и выделения бордетелл. Бактериология. 2019; 4(3): 24–30. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-24-30

Assessment of of Boretetelagar quality – nutrient media for cultivation and isolation of bordetela

Ya.V.Podkopaev¹, L.V.Domotenko¹, A.P.Shepelin¹, M.V.Khramov¹, O.Yu.Borisova², A.S.Pimenova², N.T.Gadua²

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor, Obolensk, Russian Federation;

²G.N.Gabrichesky Research Institute of Epidemiology and Microbiology Rospotrebnadzor, Moscow, Russian Federation

Bordetelagar quality have been evaluated in comparative and inter-agency trials using museum strains of *B. pertussis*, *B. parapertussis*, and *B. bronchiseptica*. It was found in a comparative study of the biological quality indicators of Bordetelagar and foreign commercial culture media for the isolation and cultivation of *B. pertussis*, that Bordetelagar is not inferior in growth properties to foreign analogues. As a result of inter-agency tests, it was found that Bordetelagar fully complies with the requirements of current regulatory documents for the diagnosis of whooping cough and paracough.

Keywords: Bordetelagar, pertussis, *Bordetella pertussis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bordetella parapertussis*, culture media

For citation: Podkopaev Ya.V., Domotenko L.V., Shepelin A.P., Khramov M.V., Borisova O.Yu., Pimenova A.S., Gadua N.T. Assessment of of Boretetelagar quality – nutrient media for cultivation and isolation of bordetela. Bacteriology. 2019; 4(3): 24–30. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-24-30

Коклюш – это острое респираторное заболевание, вызываемое представителями рода *Bordetella*. Благодаря массовой специфической иммунопрофилактике заболеваемость коклюшем в Российской Федерации за последние годы сохранялась в пределах 2,5–5,6 случаев на

100 тыс. населения. Однако в 2018 г. зарегистрирован подъем заболеваемости этой инфекцией до уровня 7,1 на 100 тыс. населения (при среднемноголетней заболеваемости 3,6). Зарегистрирован один летальный случай. На территории Российской Федерации заболеваемость коклюшем

Для корреспонденции:

Подкопаев Ярослав Васильевич, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории разработки питательных сред ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ

Телефон: (4967) 36-0003

E-mail: podkopaev@obolensk.org

Статья поступила 10.08.2019 г., принята к печати 26.09.2019 г.

For correspondence:

Yaroslav V. Podkopaev, PhD (Biology), researcher of the laboratory of culture media development, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor

Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation

Phone: (4967) 36-0003

E-mail: podkopaev@obolensk.org

The article was received 10.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

регистрируется неравномерно: от 0,31 на 100 тыс. населения в Псковской области до 19,5 на 100 тыс. населения в г. Санкт-Петербурге [1]. Таким образом, вопросы, связанные с эпидемиологическим надзором и диагностикой коклюша, не потеряли своей актуальности.

В лабораторной диагностике коклюша используют различные методы исследования, включая бактериологический, молекулярно-генетический и серологический. Несмотря на то что эффективность бактериологического метода с посевом на питательные среды при диагностике этой инфекции невысока, этот метод все еще остается наиболее распространенным в клинических лабораториях [2].

Долгое время основной питательной средой для выделения возбудителя коклюша оставался картофельно-глицериновый агар с добавлением от 15 до 50% крови (агар Борде-Жангу). С момента начала производства вакцин против коклюша появилась потребность в синтетических и полусинтетических питательных средах для культивирования вакцинных штаммов *B. pertussis*. В качестве альтернативы агару Борде-Жангу был предложен угольный агар на основе настоя говяжьего сердца. В связи с тем, что эта среда не требует добавления нативной крови, она получила распространение и в клинической микробиологии [3, 4]. В нашей стране также была разработана среда, не требующая добавления крови и содержащая в своем составе уголь, – казеиново-угольный агар [5]. Во ФБУН ГНЦ ПМБ разработан состав и осуществляется промышленное производство аналога казеиново-угольного агара – питательной среды для культивирования и выделения коклюшного микроба сухой (Бордетелагар).

Как известно, наиболее важными факторами, влияющими на эффективность бактериологического метода при диагностике инфекционных болезней, включая коклюш, являются срок обследования больного от начала заболевания, соблюдение правил забора и транспортировки материала, а также качество используемых питательных сред [2]. Результаты исследований состояния лабораторной диагностики коклюша в РФ, проводимых Референс-центром по коклюшу, выявили проблемы, связанные с осуществлением бактериологического метода и проведением контроля качества используемых питательных сред. Поэтому целью настоящего исследования явилась оценка качества Бордетелагара в сравнительных и межучрежденческих испытаниях.

Материалы и методы

Питательные среды. В исследовании использовали угольный агар – Charcoal agar Becton Dickinson (США, кат. № 289410), Bordet Gengou Agar Base Becton Dickinson (США, кат. №248200) с добавлением 1% глицерина и 15% крови бараньей дефибринированной (далее — агар Борде-Жангу) и четыре серии питательной среды для культивирования и выделения коклюшного микроба сухой Бордетелагар (ГНЦ ПМБ, Оболенск, регистрационное удостоверение ФСР 2012/13688), набор реагентов для количественного определения микробной загрязненности «Питательная среда №1 ГРМ» (ГНЦ ПМБ, Оболенск, регистрационное удостоверение ФСР 2011/11415). Все использованные в исследовании питательные среды готовили в соответствии

с инструкциями производителей. Дополнительно готовили Бордетелагар с добавлением 10% крови бараньей дефибринированной.

Биохимические тесты исследованных штаммов проводили в соответствии с методическими рекомендациями МР 3.1.2.0072-13 «Диагностика коклюша и паракоклюша» [5]. Для определения уреазной активности исследованных штаммов применен Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной (ГНЦ ПМБ, Оболенск, регистрационное удостоверение ФСР 2011/10006). Для определения нитратредуктазной активности использована среда №7 ГРМ для определения восстановления нитратов (ГНЦ ПМБ, Оболенск, регистрационное удостоверение ФСР 2011/11418); для определения утилизации цитратов – среда №14 ГРМ (цитратный агар Симмонса, ГНЦ ПМБ, Оболенск, регистрационное удостоверение ФСР 2007/00371). Тирозиназную активность определяли на ГРМ-агаре (ГНЦ ПМБ, Оболенск, регистрационное удостоверение ФСР 2007/00001) с добавлением 0,1 г тирозина. Подвижность бордетелл определяли в столбике полужидкого агара, приготовленного добавлением к ГРМ бульону (ГНЦ ПМБ, Оболенск, регистрационное удостоверение ФСР 2007/00002) 4 г/л агара. Оксидазную активность определяли с помощью тест-полосок OXItest Mikrolatest (кат. № 10003324) и реактива для оксидазного теста Mikrolatest (кат. № 10003375).

Микроорганизмы. В исследовании использовали двухсуточные культуры тест-штаммов микроорганизмов: *B. pertussis* 39 («ГКПМ-Оболенск» В-4631), *B. pertussis* 143 («ГКПМ-Оболенск» В-4635), *B. pertussis* 688 («ГКПМ-Оболенск» В-4628), *B. pertussis* 796 («ГКПМ-Оболенск» В-7632), *Bordetella bronchiseptica* 9 («ГКПМ-Оболенск» В-7822), *Bordetella parapertussis* 386 («ГКПМ-Оболенск» В-7821), полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск», и трехсуточную культуру штамма *B. pertussis* 646, полученного из музея живых культур ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. Все использованные штаммы микроорганизмов были типичны по своим культуральным, морфологическим, биохимическим свойствам.

Условия посева и инкубирования. Посевы производили параллельно в соответствии с МУК 4.2.2316-08 и «Инструкцией по бактериологическому и серологическому исследованиям при коклюше и паракоклюше» и МР 3.1.2.0072-13.

В соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» исходные суспензии микроорганизмов для посева готовили в 0,9% растворе натрия хлорида по отраслевому стандартному образцу мутности ОСО 42-28-85 (10 МЕ), что соответствует $1,1 \times 10^{10}$ клеток коклюшного микроба в 1 мл суспензии. Для получения рабочих разведений 10^{-1} – 10^{-6} и условное 10^{-7} (10^{-6} , разведенное в 4 раза) готовили 6 последовательных десятикратных и одно разведение 1:3 в стерильном 0,9% растворе натрия хлорида. Чашки Петри с испытуемыми питательными средами засеивали каплями по 0,1 мл суспензии из каждого рабочего разведения [6].

В соответствии с «Инструкцией по бактериологическому и серологическому исследованиям при коклюше и паракоклюше» и МР 3.1.2.0072-1 исходную суспензию микроорганизма для посева готовили в 0,9% растворе натрия хлорида

Таблица 1. Рост *B. pertussis*, *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica* на различных питательных средах через 72 ч инкубирования

Питательная среда	Тест-штамм					
	<i>B. pertussis</i> 39	<i>B. pertussis</i> 143	<i>B. pertussis</i> 688	<i>B. pertussis</i> 796	<i>B. parapertussis</i> 386	<i>B. bronchiseptica</i> 9
Бордетелагар	0,2–0,5 мм* 79**	0,4–0,5 мм 60	0,5–0,6 мм 81	0,2–0,5 мм 40	0,6–0,8 мм 41	1,2–1,4 мм 36
Бордетелагар с добавлением 5% крови	0,4–0,5 мм 82	0,5–0,6 мм 59	0,6–0,8 мм 77	0,4–0,5 мм 39	0,8–1,0 мм 38	1,2–1,4 мм 33
Агар Борде-Жангу	0,4–0,5 мм 92	0,5–0,6 мм 64	0,6–0,8 мм 76	0,4–0,5 мм 42	0,8–1,0 мм 36	1,2–1,4 мм 29
Charcoal agar	0,2–0,3 мм 79	точечные еле заметные колонии	0,3–0,4 мм 84	0,2 мм 46	0,4–0,6 мм 44	1,2–1,4 мм 31
Среда № 1	рост отсутствует	рост отсутствует	рост отсутствует	рост отсутствует	0,6–0,8 мм 35	1,6–1,8 мм 26

*диаметр колоний, мм; **среднее арифметическое количество колоний, выросшее при посеве из условного разведения 10^{-7} .

да по отраслевому стандартному образцу мутности ОСО 42-28-85 (5 МЕ), что соответствует 5×10^9 клеток коклюшно-го микроба в 1 мл суспензии. Из исходной взвеси штамм *B. pertussis* 646 готовили в 0,9% растворе натрия хлорида пять последовательных десятикратных разведений до 10^{-5} , затем последовательно разведения 1:4 и 1:1. Из каждого разведения каплями по 0,1 мл суспензии засеивали на чашки Петри с испытуемыми сериями Бордетелагара [5, 7].

Засеянные чашки Петри инкубировали в течение 24–72 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Результаты и обсуждения

Исследование проводили в два этапа. На первом этапе проводили сравнительное изучение биологических показателей качества Бордетелагара и иностранных коммерческих питательных сред для выделения и культивирования *B. pertussis*. На втором этапе проводили межучрежденческие испытания специфической активности четырех серий Бордетелагара на соответствие требованиям МУК 4.2.2316-08, МР 3.1.2.0072-13 и «Инструкции по бактериологическому и серологическому исследованиям при коклюше и паракклюше».

В ходе первого этапа исследования испытуемыми средами служили Бордетелагар, Charcoal agar, агар Борде-Жангу. Дополнительно были использованы Бордетелагар с добавлением 5% крови и среда №1 ГРМ.

В связи с высокими питательными потребностями *B. pertussis* рост этого микроорганизма на среде №1 ГРМ полностью отсутствовал. Представители видов *B. parapertussis* и *B. bronchiseptica* менее прихотливы к среде культиви-

рования, поэтому их рост был получен на всех исследованных средах, включая среду №1 ГРМ.

Рост штаммов *B. pertussis* из разведений 10^{-1} – 10^{-3} был зарегистрирован через 24 ч инкубирования на чашках Петри на всех исследованных средах в виде сливного роста, который благодаря посеву каплями выглядел на поверхности сред как тонкие сплошные бляшки культуры. Через 48 ч визуальный рост тест-штаммов был замечен на чашках Петри с Бордетелагаром, агаром Борде-Жангу и Бордетелагаром с добавлением 5% крови, засеянных из разведения 10^{-5} , тогда как на Charcoal agar максимальное разведение, из которого обнаруживался рост *B. pertussis*, было 10^{-4} , что свидетельствует о более низкой скорости роста на этой питательной среде. Через 72 ч культивирования визуальный рост был отмечен на всех исследованных средах, засеянных из всех разведений до 10^{-7} включительно. Из разведений 10^{-6} – 10^{-7} штаммы *B. pertussis* вырастали в виде однотипных круглых ровных колоний серовато-белого цвета. Диаметр колоний и их среднее арифметическое количество приведены в таблице 1.

На Бордетелагаре (рис. 1а) использованные в исследовании штаммы *B. pertussis* вырастали в виде колоний диаметром от 0,2 до 0,6 мм и незначительно уступали по размерам колониям, выросшим на агаре Борде Жангу (рис. 1б) и Бордетелагаре с добавлением крови, на которых этот показатель варьировался от 0,4 до 0,8 мм. Наиболее мелкие колонии росли на Charcoal agar – их диаметр не превышал 0,4 мм. Особенно заметно отставание в росте было у штамма *B. pertussis* 143: через 72 ч инкубирования на этой питательной среде он вырастал в виде точечных еле заметных колоний, которые лишь на четвертые сутки культивирования достигали диаметра 0,2–0,4 мм. Количество колоний,



Рис. 1. Рост *B. pertussis* 143 через 72 ч инкубирования на: а – Бордетелагаре; б – агаре Борде-Жангу.

выросшее на каждой из исследованных питательных сред при посеве из разведения 10^{-7} , различалось не значительно, что свидетельствует об одинаковой чувствительности этих сред.

Через 24 ч инкубирования диаметр колоний *B. bronchiseptica* 9 на чашках Петри, засеянных бактериальной суспензией из разведения 10^{-7} , составлял 0,4–0,5 мм. Спустя еще одни сутки колонии этого штамма достигали 1,6–1,8 мм на среде №1 и 1,2–1,4 мм на остальных исследованных средах. Различий в морфологии у штамма *B. bronchiseptica* 9, выросшем на агаре Борде-Жангу, Charcoal agar и среде №1 ГРМ через 48 ч инкубирования, отмечено не было. На этих средах он рос в виде круглых ровных колоний белого цвета, тогда как на Бордетелагаре колонии были кремового цвета, а на Бордетелагаре с добавлением крови – желтовато-коричневого.

Через 24 ч инкубирования визуально рост штамма *B. parapertussis* 386 был заметен на всех исследованных средах, засеянных только из разведений 10^{-1} – 10^{-4} . Через 48 ч инкубирования на чашках Петри, засеянных из разведения 10^{-7} , формировались круглые гладкие колонии белого цвета диаметром от 0,3 до 0,6 мм. При этом на чашках Петри с агаром Борде-Жангу, засеянных из разведений 10^{-1} – 10^{-3} , в зоне роста культуры происходило почернение среды (рис. 2). Через 72 ч инкубирования почернение среды было заметно на всех чашках Петри с этой средой, а вокруг колоний сформировалась зона β-гемолиза. В то же время на среде №1 ГРМ в зоне роста *B. parapertussis* 386 отмечено изменение цвета среды со светло-желтого на бурый. Цвет самих колоний на агаре Борде-Жангу, Charcoal agar и среде № 1 ГРМ остался без изменений, тогда как на Бордетелагаре и Бордетелагаре с добавлением крови колонии *B. parapertussis* 386 приобретали бурю окраску. Наиболее крупные колонии *B. parapertussis* 386 выросли на агаре Борде-Жангу и Бордетелагаре с добавлением крови, их диаметр составлял 0,8–1,0, а наиболее мелкие, диаметром 0,4–0,6 мм, – на Charcoal agar.

Таким образом, на первом этапе исследования установлено, что по скорости роста и размеру выросших колоний *B. pertussis* Бордетелагар превосходит Charcoal agar и лишь незначительно уступает агару Борде-Жангу. Более крупные колонии на агаре Борде-Жангу обусловлены наличием в этой среде нативной крови. Добавление в Бордетелагар 10% крови нивелирует различия с агаром Борде-Жангу в размерах выросших колоний. В связи с этим для улучшения ростовых свойств Бордетелагара можно рекомендовать



Рис. 2. Почернение среды в зоне роста *B. parapertussis* 386 на агаре Борде-Жангу через 48 ч инкубирования.

добавлять в питательную среду кровь, однако это не является обязательным или необходимым условием для выделения и культивирования *B. pertussis* на Бордетелагаре.

На агаре Борде-Жангу возможна дифференциация *B. pertussis* от *B. parapertussis* по почернению среды и β-гемолизу в зоне роста *B. parapertussis*. На Бордетелагаре через 48–72 ч культивирования колонии различных видов бордетелл различаются по цвету: *B. pertussis* остаются серовато-белого цвета, колонии *B. bronchiseptica* становятся кремового цвета, а колонии *B. parapertussis* приобретают бурый цвет. На питательной среде Charcoal agar отсутствует возможность дифференцировать *B. pertussis* от *B. bronchiseptica* и *B. parapertussis* по внешнему виду колоний.

В клинической практике для идентификации выделенных культур бордетелл используют ряд тестов, связанных с биохимическими свойствами микроорганизмов, в частности, определяют уреазную, оксидазную, тирозиназную активность, тест на подвижность, восстановление нитратов и утилизацию цитратов. В ГНЦ ПМБ выпускаются питательные среды, предназначенные для постановки биохимических тестов у энтеробактерий, которые были использованы в данной работе. Уреазную активность бордетелл опреде-

Таблица 2. Результаты биохимических тестов для штаммов бордетелл, выросших на Бордетелагаре (подвижность и тирозиназа)

Штамм	Уреазная активность на железо-глюкозо-лактозном агаре с мочевиной	Восстановление нитратов на среде № 7 ГРМ	Утилизация цитратов на среде № 14 ГРМ	Тирозиназная активность на ГРМ-агаре + 0,1 г тирозина	Подвижность в столбике полужидкого агара (ГРМ бульону + 4 г/л агара)	Оксидазная активность
<i>B. pertussis</i> по МР 3.1.2.0072-13	–	–	–	–	–	+
<i>B. pertussis</i> 39	–	–	–	–	–	+
<i>B. pertussis</i> 143	–	–	–	–	–	+
<i>B. pertussis</i> 688	–	–	–	–	–	+
<i>B. pertussis</i> 796	–	–	–	–	–	+
<i>B. parapertussis</i> по МР 3.1.2.0072-13	+	–	–	+	–	–
<i>B. parapertussis</i> 386	+	–	–	+	–	–
<i>B. bronchiseptica</i> по МР 3.1.2.0072-13	+	+	+	–	+	+
<i>B. bronchiseptica</i> 9	+	+	+	–	+	+

ляли с использованием железо-глюкозо-лактозного агара с мочевиной, нитратредуктазную активность – с использованием питательной среды №7 ГРМ, утилизацию (ассимиляцию) цитрата – с использованием питательной среды №14 ГРМ (цитратный агар Симмонса). Тирозиназную активность определяли на ГРМ-агаре с добавлением 0,1 г тирозина.

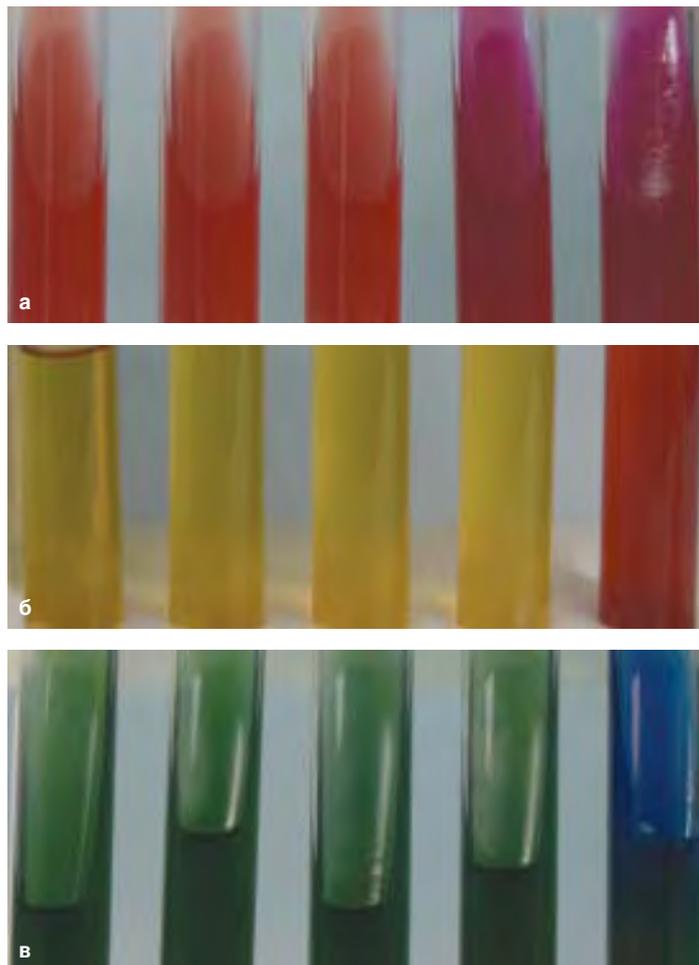


Рис. 3. Биохимические тесты бордетелл: а – определение уреазной активности на железо-глюкозо-лактозном агаре с мочевиной; б – определение нитратредуктазной активности на среде № 7 ГРМ; в – определение утилизации цитрата на среде № 14 ГРМ (цитратный агар Симмонса). Слева направо: контроль (незасеянная питательная среда); далее – засеянные питательные среды *B. pertussis* 39; *B. pertussis* 688; *B. parapertussis* 386 и *B. bronchiseptica* 9.

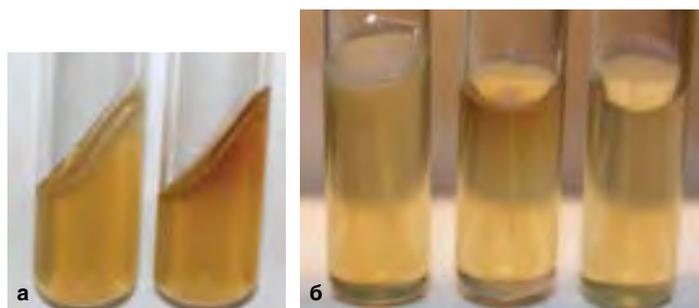


Рис. 4. Определение тирозиназной активности и подвижности бордетелл: а – определение тирозиназной активности (первая пробирка – *B. pertussis* 39 и *B. bronchiseptica* 9; вторая пробирка – *B. parapertussis* 386); б – определение подвижности (слева направо: *B. bronchiseptica* 9, *B. parapertussis* 386 и *B. pertussis* 39).

Подвижность бордетелл определяли в столбике полужидкого агара, приготовленного добавлением к ГРМ бульону 4 г/л агара. В качестве дополнительного теста определяли оксидазную активность. Результаты проведенных тестов представлены в таблице 2.

Полученные результаты полностью соответствуют биохимическим характеристикам бордетелл. Все штаммы *B. pertussis* при положительном оксидазном тесте не обладают уреазной, нитратредуктазной, тирозиназной активностью и способностью утилизировать цитраты (не изменяют цвет соответствующих питательных сред), не подвижны (рис. 3а-в, 4а-б). Штамм *B. parapertussis* 386 продуцирует уреазу, вызывая расщепление мочевины и окрашивая столбик и скошенную часть железо-глюкозо-лактозного агара с мочевиной в ярко-малиновый цвет (рис. 3а); обладает тирозиназной активностью, окрашивая ГРМ-агар с тирозином в коричневый цвет (рис. 4а); не восстанавливает нитраты в нитриты и не изменяет цвет среды №7 при внесении реактива Грисса (рис. 3б); не утилизирует цитраты и не изменяет цвет среды №14 ГРМ (рис. 3в); не подвижен (рис. 4б); не обладает оксидазной активностью. Штамм *B. bronchiseptica* 9, как свойственно бронхисептикозным бактериям, продуцирует оксидазу и уреазу, окрашивая столбик и скошенную часть железо-глюкозо-лактозного агара с мочевиной в ярко-малиновый цвет (рис. 3а), восстанавливает нитраты в нитриты, и появляется красное окрашивание при внесении реактива Грисса в засеянную среду № 7 ГРМ (рис. 3б), утилизирует цитраты и изменяет цвет среды № 14 ГРМ с зеленого на синий (рис. 3 в); не обладает тирозиназной активностью (рис. 4а); обладает подвижностью (рис. 4б).

На втором этапе исследования сотрудниками ФБУН Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского (ФБУН МНИИЭМ) совместно сотрудниками с ФБУН Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии (ФБУН ГНЦ ПМБ) Роспотребнадзора были проведены межучрежденческие испытания специфической активности четырех серий Бордетелагара.

В действующих в РФ нормативных документах существуют различия в методах контроля качества питательной среды для выделения и культивирования коклюшного микроба. Согласно МУК 4.2.2316-08, предназначенным как для производителей питательных сред, так для лабораторий, использующих питательные среды, при контроле качества среды необходимо использовать только определенные штаммы микроорганизмов: *B. pertussis* 649, *B. pertussis* 79, *B. pertussis* 39, *B. pertussis* 703, *B. pertussis* 688, *B. pertussis* 796 или *B. pertussis* 143. Посев должен производиться из разведений 10^{-6} и 10^{-6} , разведенного в четыре раза. Согласно МР 3.1.2.0072-13 и «Инструкции по бактериологическому и серологическому исследованиям при коклюше и паракоклюше» перечень тест-штаммов для внутрилабораторного контроля качества питательной среды не регламентируется, а посев производится из восьми разведений, включая исходное. Основное отличие методик заключается в концентрации бактерий в последнем разведении: по требованиям МР 3.1.2.0072-13 их концентрации в два раза выше, чем по требованиям МУК 4.2.2316-08 (табл. 3).

Таблица 3. Схема приготовления разведений тест-штаммов *B. pertussis* при контроле качества питательной среды для выделения и культивирования коклюшного микроба по МР 3.1.2.0072-13 и МУК 4.2.2316-08

№ пробирки	МР 3.1.2.0072-13		МУК 4.2.2316-08	
	Количество микробов в 1 мл	Разведение	Количество микробов в 1 мл	
1	5×10^9	Исходное	1×10^{10}	
2	5×10^8	10^{-1}	1×10^9	
3	5×10^7	10^{-2}	1×10^8	
4	5×10^6	10^{-3}	1×10^7	
5	5×10^5	10^{-4}	1×10^6	
6	5×10^4	10^{-5}	1×10^5	
7	1×10^4	10^{-6}	1×10^4	
8	5×10^3	10^{-7} условное (готовится разведением в 4 раза разведения 10^{-6})	$2,5 \times 10^3$	

Анализ данных, представленных в таблице 3, показывает, что контроль качества производственных серий Бордетелагара в ГНЦ ПМБ (Оболенск), проводимый согласно требованиям МУК 4.2.2316-08, является более строгим.

Результаты испытаний, проведенных в соответствии с МУК 4.2.2316-08 представлены в таблице 4, а в соответствии с МР 3.1.2.0072-1 – в табл. 5.

Все используемые в испытаниях штаммы *B. pertussis* выросли на всех исследованных сериях Бордетелагара в виде выпуклых гладких круглых блестящих серых колоний с ровным краем диаметром от 0,3 до 0,8 мм у штаммов *B. pertussis* 39, *B. pertussis* 143, *B. pertussis* 688 и *B. pertussis* 796 и диаметром от 1,5 до 2,0 мм у штамма *B. pertussis* 646. Отличительной особенностью штамма *B. pertussis* 646 служила его высокая скорость роста: уже через 24 ч инкубирования можно было заметить его рост на всех засеянных чашках Петри.

В результате второго этапа исследований установлено, что время формирования колоний, интенсивность роста и культурально-морфологические свойства *B. pertussis*, выращенных на испытуемых сериях питательной среды для культивирования и выделения коклюшного микроба сухой (Бордетелагар) соответствует МР 3.1.2.0072-13, «Инструкции по бактериологическому и серологическому исследованиям при коклюше и паракоклюше», а также более жестким требованиям МУК 4.2.2316-08.

Дополнительно под руководством сотрудников ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н.Габричевского проведены исследования шести серий Бордетелагара (с.15, с.16, с.17, с.18, с.19 и

Таблица 4. Рост штаммов *B. pertussis* из разведения 10^{-7} (условно) в соответствии с МУК 4.2.2316-08 на четырех сериях Бордетелагара

Наименование тест-штамма	Серия 12	Серия 13	Серия 14	Серия 15
<i>B. pertussis</i> 39	72 ч 0,3–0,6 мм	72 ч 0,3–0,6 мм	72 ч 0,3–0,6 мм	72 ч 0,3–0,6 мм
<i>B. pertussis</i> 143	72 ч 0,4–0,8 мм	72 ч 0,4–0,8 мм	72 ч 0,4–0,8 мм	72 ч 0,4–0,8 мм
<i>B. pertussis</i> 688	72 ч 0,6–0,8 мм	72 ч 0,6–0,8 мм	72 ч 0,6–0,8 мм	72 ч 0,6–0,8 мм
<i>B. pertussis</i> 796	72 ч 0,4–0,6 мм	72 ч 0,4–0,6 мм	72 ч 0,4–0,6 мм	72 ч 0,4–0,6 мм
<i>B. pertussis</i> 646	48 ч 1,5–2,0 мм	48 ч 1,5–2,0 мм	48 ч 1,5–2,0 мм	48 ч 1,5–2,0 мм

с.21) на четырех региональных практических семинарах по лабораторной диагностике коклюша в различных субъектах РФ (г. Ростов-на-Дону, г. Ставрополь, г. Москва, г. Санкт-Петербург, г. Воронеж, г. Новосибирск, г. Нижний Новгород, г. Ханты-Мансийск, г. Владивосток). Эти испытания показали, что испытуемые серии Бордетелагара обладают хорошими ростовыми свойствами.

Заключение

Проведенные исследования показали, что Бордетелагар не уступает по скорости роста и чувствительности средам аналогичного назначения иностранного производства. Бордетелагар полностью соответствует требованиям МУК 4.2.2316-08, МР 3.1.2.0072-13, «Инструкции по бактериологическому и серологическому исследованиям при коклюше и паракоклюше».

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Литература

1. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 году: Государственный доклад [Электронный ресурс]. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019, 254 с. Режим доступа: https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-ostoyaniisanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsiiiv-2018-godu.pdf (дата обращения 19.07.2019).

Таблица 5. Оценка специфической активности испытуемых серий Бордетелагара в соответствии с МР 3.1.2.0072-1 через 24–72 ч культивирования

Серия питательной среды	Учет результатов	№ пробирки (разведения)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Серия 14	24 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	++
	48 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	++
	72 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	++
Серия 13	24 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++
	48 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++
	72 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++
Серия 12	24 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++
	48 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++
	72 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++
Серия 15	24 ч	++++	++++	++++	++++	++++	Суспензия не впиталась		
	48 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++
	72 ч	++++	++++	++++	++++	++++	+++	+++	++

2. Грачева НМ, Девяткин АВ, Петрова МС, Борисова ОЮ, Скирда ТА, Новикова ЛИ, и др. Коклюш (клиника, диагностика, лечение). Поликлиника. 2016;2-3:13-25.
3. Kendrick P, Eldering G. Cough plate examinations for *B. pertussis*. Am J Public Health Nations Health. 1934 Apr;24(4):309-18. DOI: 10.2105/ajph.24.4.309
4. Mishulow L, Sharpe LS, Cohen LL. Beef-heart charcoal agar for the preparation of pertussis vaccines. Am J Public Health Nations Health. 1953 Nov;43(11):1466-72. DOI: 10.2105/ajph.43.11.1466
5. Диагностика коклюша и паракоклюша: методические рекомендации МР 3.1.2.0072-13: утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 24.05.2013. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2013, 56 с.
6. Методы контроля бактериологических питательных сред: методические указания МУК 4.2.2316–08. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2008, 67 с.
7. Инструкция по бактериологическому и серологическому исследованиям при коклюше и паракоклюше (для бактериологических лабораторий санитарно-эпидемиологических станций и больниц): утверждена начальником Главного управления карантинных инфекций Минздрава СССР 09.09.1983. М.: Министерство здравоохранения; 1983, 36 с.

References

1. Sanitary and epidemiological welfare of the population in the Russian Federation in 2018: State report [Electronic resource]. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; 2019, 254 p. Available at: https://www.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyaniisanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-2018-godu.pdf (accessed 19.07.2019). (In Russian).
2. Gracheva NM, Devyatkin AV, Petrova MS, Borisova OYu, Skirda TA, Novikova LI, et al. Koklyush (klinika, diagnostika, lechenie). Poliklinika. 2016;2-3:13-25. (In Russian).
3. Kendrick P, Eldering G. Cough plate examinations for *B. pertussis*. Am J Public Health Nations Health. 1934 Apr;24(4):309-18. DOI: 10.2105/ajph.24.4.309
4. Mishulow L, Sharpe LS, Cohen LL. Beef-heart charcoal agar for the preparation of pertussis vaccines. Am J Public Health Nations Health. 1953 Nov;43(11):1466-72. DOI: 10.2105/ajph.43.11.1466
5. Diagnosis of whooping cough and paracocclush: guidelines MR 3.1.2.0072-13: approved by the Chief state sanitary doctor of the Russian Federation 24.05.2013. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; 2013, 56 p. (In Russian).
6. Methods of control of bacteriological nutrient media: methodical instructions of МУК 4.2.2316–08. Moscow: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing; 2008, 67 p. (In Russian).
7. Instructions for bacteriological and serological studies in whooping cough and paracocclush (for bacteriological laboratories of sanitary-epidemiological stations and hospitals): approved by the head of the Main Department of quarantine infections of the Ministry of health of the USSR 09.09.1983. Moscow, 1983, 36 p. (In Russian).

Информация об авторах:

Домотенко Любовь Викторовна, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории разработки питательных сред ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0003
 E-mail: domotenko@obolensk.org

Шепелин Анатолий Прокопьевич, доктор биологических наук, заместитель директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0020
 E-mail: shepelin@obolensk.org

Храмов Михаил Владимирович, кандидат медицинских наук, заместитель директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0017
 E-mail: khramov@obolensk.org

Борисова Ольга Юрьевна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора
 Адрес: 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10
 Телефон: (499) 747-6484
 E-mail: olgaborisova@mail.ru

Пименова Алена Сергеевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора
 Адрес: 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10
 Телефон: (499) 747-6484
 E-mail: alenaa_85@mail.ru

Гадуа Натия Торникеевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории диагностики дифтерийной и коклюшной инфекций ФБУН «Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора
 Адрес: 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10
 Телефон: (499) 747-6484
 E-mail: 8nati8@mail.ru

Information about authors:

Lubov V. Domotenko, PhD (Chem), leading researcher of the laboratory of culture media of the laboratory of culture media development, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0003
 E-mail: domotenko@obolensk.org

Anatoly P. Shepelin, PhD, DSc (Biology), deputy director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0020
 E-mail: shepelin@obolensk.org

Mikhail V. Khramov, MD, PhD, deputy director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0017
 E-mail: khramov@obolensk.org

Olga Yu. Borisova, MD, PhD, DSc, professor, head of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections of G.N.Gabrichesky Research Institute of Epidemiology and Microbiology
 Address: 10 Admiral Makarov str., Moscow, 125212, Russian Federation
 Phone: (499) 747-6484
 E-mail: olgaborisova@mail.ru

Alena S. Pimenova, PhD (Medicine), senior research associate of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections of G.N.Gabrichesky Research Institute of Epidemiology and Microbiology
 Address: 10 Admiral Makarov str., Moscow, 125212, Russian Federation
 Phone: (499) 747-6484
 E-mail: alenaa_85@mail.ru

Natya T. Gadua, PhD (Medicine), senior research associate of laboratory of diagnostic of diphtheria and pertussis infections of G.N. Gabrichesky Research Institute of Epidemiology and Microbiology
 Address: 10 Admiral Makarov str., Moscow, 125212, Russian Federation
 Phone: (499) 747-6484
 E-mail: 8nati8

Сравнительный анализ питательных сред для выделения протеев

А.П.Шепелин, О.В.Полосенко

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

В настоящее время значительно возрос интерес к изучению заболеваний, вызванных условно-патогенными микроорганизмами. Некоторые виды вызывают инфекции мочевыводящих путей, поражение желудочно-кишечного тракта, вторичные септические поражения после хирургических вмешательств, могут быть возбудителями внутрибольничных инфекций.

Бактериологический метод – основной и наиболее достоверный метод диагностики протейной инфекции. Выделение микроорганизма и получение «чистой культуры» значительно осложняются из-за способности некоторых бактерий рода *Proteus* к роению. Кроме того, бактерии рода *Proteus* довольно часто находятся в ассоциации с другими микроорганизмами, поэтому для их выделения используется ряд селективных и дифференциально-диагностических сред. Проведена специфическая оценка биологических свойств ряда современных питательных сред с целью определения культурально-морфологических и биохимических свойств бактерий рода *Proteus*.

Ключевые слова: питательные среды, протей, специфическая активность, дифференцирующие свойства, селективность

Для цитирования: Шепелин А.П., Полосенко О.В. Сравнительный анализ питательных сред для выделения протеев. Бактериология. 2019; 4(3): 31–37. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-31-37

Comparative analysis of nutrient media for proteus isolating

A.P.Shepelin, O.V.Polosenko

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Russian Federation

Currently, interest in the study of diseases caused by opportunistic microorganisms has significantly increased. Some species cause urinary tract infections, gastrointestinal tract damage, secondary septic lesions after surgery. Also, they can be causative agents of nosocomial infections.

The bacteriological method is the main and most reliable method for proteus infection diagnostic. Isolation of the microorganism and obtaining a «pure culture» is significantly complicated due to the ability of some bacteria of the genus *Proteus* to swarm. In addition, bacteria of the genus *Proteus* are quite often associated with other microorganisms, therefore, a number of selective and differential diagnostic media are used to isolate them.

A specific assessment of the biological properties of a number of modern nutrient media was carried out in order to determine the cultural, morphological and biochemical properties of bacteria of the genus *Proteus*.

Key words: nutrient media, protea, specific activity, differentiating properties, selectivity

For citation: Shepelin A.P., Polosenko O.V. Comparative analysis of nutrient media for proteus isolating. Bacteriology. 2019; 4(3): 31–37. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-31-37

Микроорганизмы рода *Proteus* относятся к факультативным обитателям толстого кишечника человека, обнаруживаются лишь у 5–10% здоровых людей и самостоятельного значения как показатель фекального загрязнения не имеют, но имеют определенное санитарно-показательное значение. Обнаружение большого количества *P. vulgaris* в почве и воде может свидетельствовать

о содержании в них и разрушении органических веществ животного происхождения. При загрязнении объектов внешней среды фекальными стоками, как правило, выявляют *P. mirabilis* [1].

Санитарно-показательные микроорганизмы рода *Proteus* вместе с бактериями группы кишечной палочки, энтерококками, сульфитредуцирующими клостридиями, колифагами

Для корреспонденции:

Шепелин Анатолий Прокопьевич, доктор биологических наук, заместитель директора по научно-производственной деятельности ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ

Телефон: (4967) 36-0020

E-mail: shepelin@obolensk.org

Статья поступила 11.08.2019 г., принята к печати 26.09.2019 г.

For correspondence:

Anatoly P. Shepelin, PhD, DSc (Biology), deputy director for science and production, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation

Phone: (4967) 36-0020

E-mail: shepelin@obolensk.org

The article was received 11.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

применяют для санитарно-гигиенической оценки почвы, воды открытых водоемов [2].

Существуют гигиенические нормативы по микробиологическим показателям безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов, которые включают несколько групп микроорганизмов, в том числе условно-патогенные бактерии рода *Proteus* [3, 4].

В последние годы инфекционисты отмечают рост заболеваний, обусловленных бактериями *Proteus*. Кишечная форма заболевания, вызванная бактериями рода *P. vulgaris*, протекает тяжелее у детей раннего возраста. Не менее опасны гнойно-воспалительные заболевания мочевыводящей системы, вызываемые *P. mirabilis*, *P. rettgeri*.

Актуальность проблемы внутрибольничных инфекций (ВБИ) определяется широким распространением их в медицинских учреждениях различного профиля и значительным ущербом, наносимым этими заболеваниями здоровью населения [5].

Циркулирующие в стационарах возбудители ВБИ постепенно формируют госпитальные штаммы, наиболее эффективно адаптированные к местным особенностям того или иного отделения. Так, в хирургических стационарах общего профиля доминирует кишечная палочка, в урологических – кишечная палочка, протей, синегнойная палочка, клебсиеллы, в травматологических – золотистый стафилококк, синегнойная палочка, протей и т.п. Внутрибольничную (нозокомиальную) протейную инфекцию человека чаще вызывает *P. stuartii*.

Бактериологический метод – основной и наиболее достоверный метод диагностики протейной инфекции. Диагноз инфекции, вызванной *Proteus* spp., зависит от результатов культурального выделения микроорганизма.

Ферментативные гидролизаты белков (пептон, триптон, ПГРМ) содержат аминокислоты, пептиды, витамины группы В, минеральные вещества, т.е. все компоненты, необходимые для нормального развития микробной популяции. Поэтому они широко используются в качестве питательных субстратов для культивирования и выделения бактерий рода протеев, образующих на плотных питательных средах вуалеобразный налет (роение), что является характерной особенностью данных микроорганизмов. Кроме того, такие среды должны содержать компоненты, подавляющие рост ассоциативной микрофлоры.

Цель исследования – определение культурально-морфологических и биохимических свойств бактерий рода *Proteus* с использованием современных дифференциально-диагностических питательных сред.

Материалы и методы

Для биологического контроля питательных сред были использованы тест-штаммы микроорганизмов из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск». Все использованные штаммы микроорганизмов типичны по своим культуральным, морфологическим, биохимическим свойствам. Исследовано 40 тест-штаммов энтеробактерий, включая *P. vulgaris*, *P. inconstans*, *P. alcalifaciens*, *P. stuartii*, *P. rettgeri*, а также 15 грамположительных тест-штаммов.

Результаты и обсуждение

Микроб хорошо культивируется на обычных питательных средах. При посеве материала, содержащего бактерии рода *Proteus*, в конденсационную воду свежескошенного агара (метод Шукевича) через несколько часов на мясо-пептонном агаре отмечается роение микроба, ползучий нежный вуалеобразный рост. Посев по методу Шукевича широко применяют в диагностических лабораториях при выделении протей из объектов внешней среды и продуктов [6].

При росте на плотных питательных средах, таких как ГРМ-агар, питательная среда №1, большинство штаммов протеев, обладающих феноменом роения или «ползучего роста», также образуют тонкий вуалеобразный налет на поверхности среды. Нероящиеся формы протей на таких неселективных питательных средах образуют круглые бесцветные колонии S-формы.

На рисунке 1 представлен рост роящегося тест-штамма *P. vulgaris* HX 19 222 на питательной среде ГРМ-агар. Тест-штамм *P. alcalifaciens* NCTC 1068-50 образует более компактные колонии диаметром 2,0–2,2 мм.

На кровяном агаре (ГРМ-агар с добавлением 7% крови барана) тест-штаммы *P. vulgaris* HX 19 222 и *P. mirabilis* Сиднеев также образуют зоны роения, что является характерной особенностью данных микроорганизмов, а нероящийся тест-штамм *P. alcalifaciens* NCTC 1068-50 на такой питательной среде образует мелкие серые блестящие колонии в S-форме (рис. 2).

Идентификация энтеробактерий начинается с изучения их колоний на дифференциально-диагностических средах. Для целей клинической микробиологии это в первую очередь среды Эндо или агар с эозин-метиленовым синим (среда Левина). Такие среды обычно не справляются с вуалеобразным ростом протеев (рис. 3, 4). Нероящиеся представители рода протеев обычно образуют более «нежные» колонии небольших размеров [7, 8].

Так как при выделении чистых культур микроорганизмов с неселективных или слабоселективных плотных питательных сред возникают затруднения из-за присутствия протей, способного к роению, для подавления данного феномена используют среды, содержащие соли желчных кислот (среда Плоскирева, висмут-сульфит агар, агар Мак-Конки, SS-агар и др.), желчь, 0,1% раствор хлоралгидрата, а также хорошо просушенные среды, на которых возможно наблюдать рост протей без роения либо с очаговым роением.

В методических указаниях, используемых для диагностики энтеробактерий, нет дифференциально-диагностических питательных сред, рекомендуемых конкретно для выделения протей. Все представленные дифференциально-диагностические среды так или иначе содержат компоненты, ингибирующие рост и роение протей. Это может привести к не совсем достоверной диагностике и потере изолятов протей, патогенных для человека.

Так, на питательной среде для выделения сальмонелл и шигелл (SS-агар) рост *P. mirabilis* 3177 сопровождается образованием колоний бурого цвета с темным центром диаметром 2,0–4,0 мм без роения. Рост *P. vulgaris* HX 19 222 – в виде бесцветных колоний диаметром 2,0–4,0 мм, возможно частичное очаговое роение (рис. 5).

На питательной среде для выделения сальмонелл (Висмут-сульфит-ГРМ агар) колонии *P. vulgaris* HX 19 222 круглые, светло-зеленого цвета диаметром 1,0–2,0 мм (рис. 6).

На питательной среде для селективного выделения и учета всех видов энтеробактерий (агар Мосселя) *P. mirabilis* 3177 растет в виде круглых, малинового цвета колоний, с зоной преципитации диаметром 1,5–2,5 мм [9] (рис. 7). Селективность агара Мосселя в отношении грамположительных микроорганизмов основана на ингибиторной способности кристаллического фиолетового и солей желчных кислот.

Высокоселективная питательная среда для выделения и дифференциации патогенных энтеробактерий (XLD-агар) обладает ярко выраженными дифференцирующими свой-

ствами. Бактерии, продуцирующие в процессе роста на XLD-агаре сероводород, образуют колонии с черным центром. Образование черного центра происходит в процессе химической реакции солей железа, входящих в состав среды, с сероводородом и образованием в результате реакции сульфида железа черного цвета. На XLD-агаре тест-штамм *P. mirabilis* 3177 образует круглые, прозрачные колонии с черным центром, диаметром 1,0–2,5 мм (рис. 8).

Лактозный ТТХ агар с тергитолом 7 является средой, в основном применяемой для обнаружения и учета *E. coli* и колиформных бактерий. Дифференцирующие свойства среды основаны на изменении pH в кислую сторону при росте лактозоферментирующих бактерий, которые образуют на среде колонии желтого или желто-оранжевого цвета

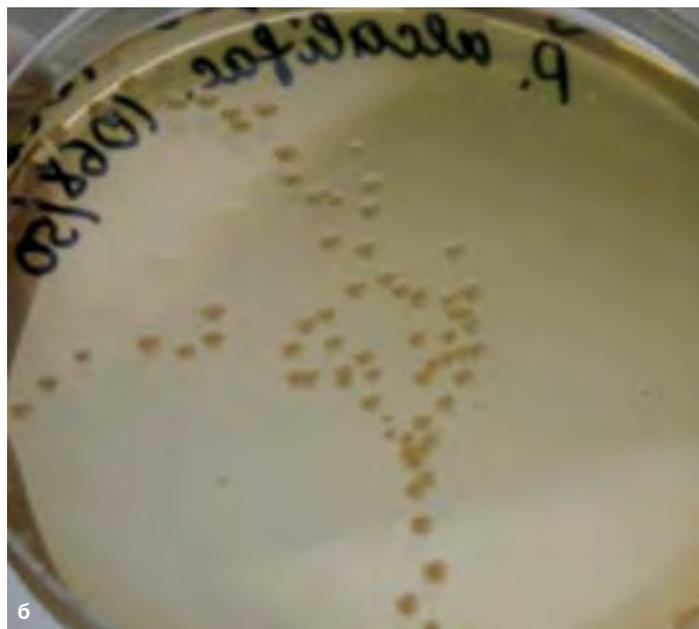
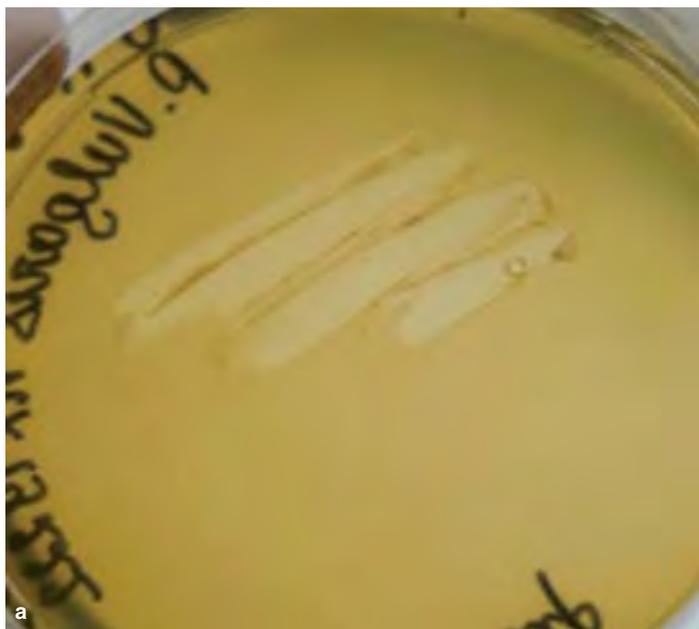


Рис. 1. Рост тест-штаммов на ГРМ-агаре: а – *P. vulgaris* HX 19 222; б – *P. alcalifaciens* NCTC 1068-50.

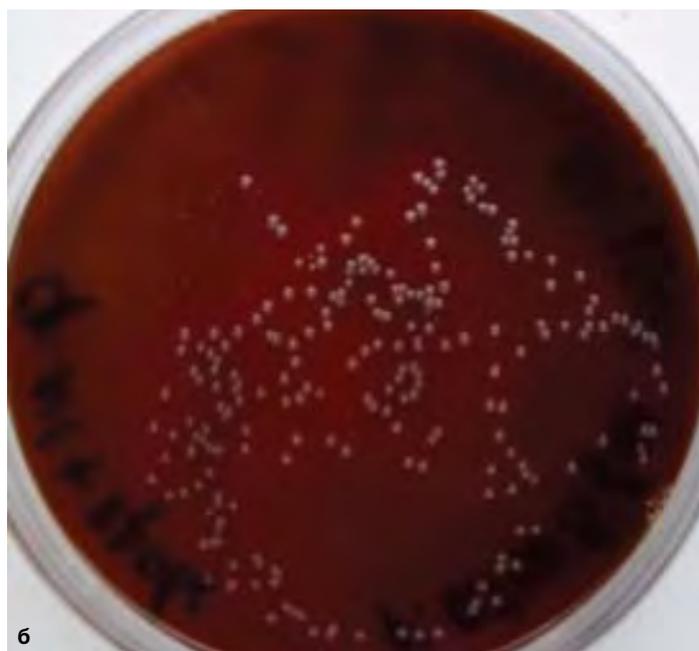
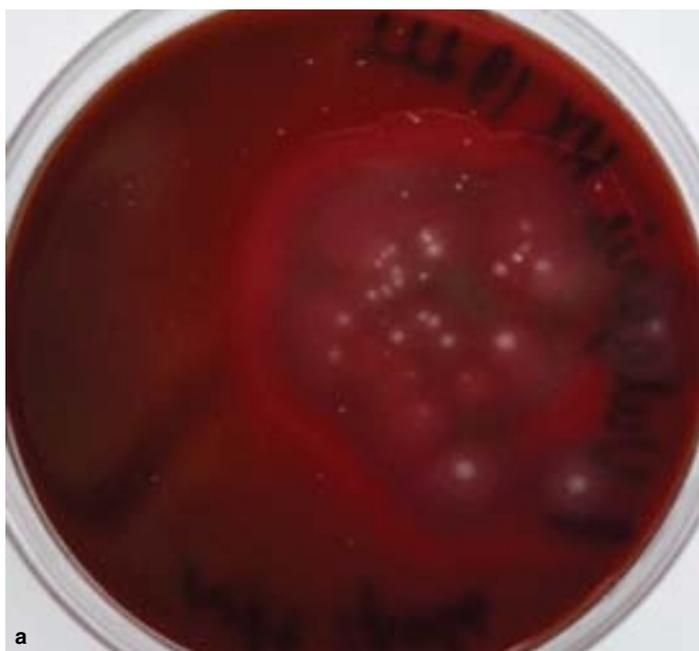


Рис. 2. Рост тест-штаммов на кровяном агаре: а – *P. vulgaris* HX 19 222; б – *P. alcalifaciens* NCTC 1068-50.

с желтой зоной вокруг колоний и на восстановлении 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ) лактозоотрицательными бактериями, которые окрашиваются в красно-коричневый цвет.

Селективность среды обеспечивает тергитол 7, додецилсульфат натрия и ТТХ, подавляющие рост большинства грамположительных бактерий.

На рисунке 9 представлен рост протеев *P. mirabilis* Сиднеев и *P. alcalifaciens* NCTC 1068-50 на лактозном ТТХ агаре с тергитолом 7.

Актуальность проблемы внутрибольничных инфекций, в том числе и от протеев, диктует необходимость разработки новой питательной среды, обеспечивающей выделение и предварительную видовую дифференциацию этой бактерии. В ФБУН ГНЦ ПМБ была разработана «Дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения

протеев», предназначенная для выделения и визуальной идентификации бактерий рода протеев, провиденции и морганелл из клинического материала.

Среда обеспечивает селективность в отношении грамположительной и грамотрицательной сопутствующей микрофлоры за счет присутствия в среде желчи крупного рогатого скота, кристаллического фиолетового и полимиксина В сульфата [10].

Дифференциально-диагностическая питательная среда обеспечивает рост протеев в виде:

- колонии *Proteus alcalifaciens* NCTC 1068-50 – круглые, гладкие, полупрозрачные, розового цвета диаметром от 1,5 до 2,5 мм (рис. 10a);
- колонии *Proteus mirabilis* 3177 – круглые, гладкие, полупрозрачные, розовые, с темным центром, диаметром от 1,0 до 2,5 мм (рис. 10b);



Рис. 3. Рост тест-штамма *P. mirabilis* 3177 на среде Левина.

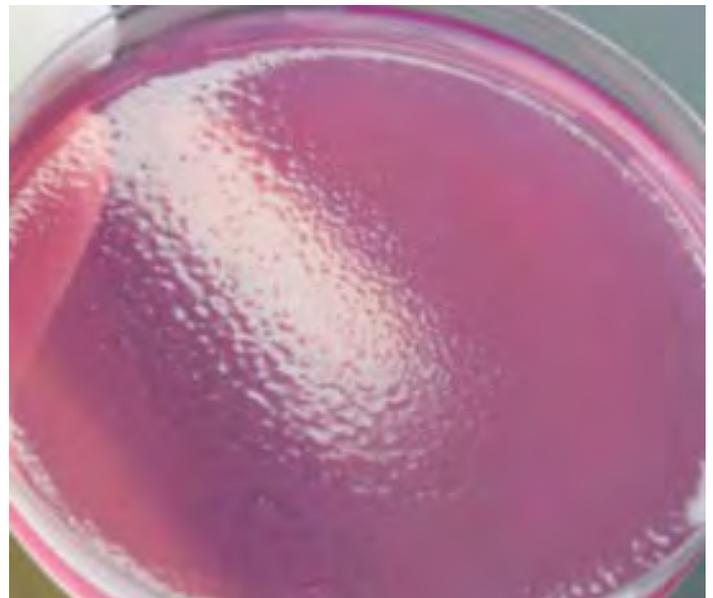


Рис. 4. Рост тест-штамма *P. mirabilis* 3177 на агаре Эндо-ГРМ.



Рис. 5. Рост тест-штамма *P. vulgaris* HX 19 222 на SS-агаре.

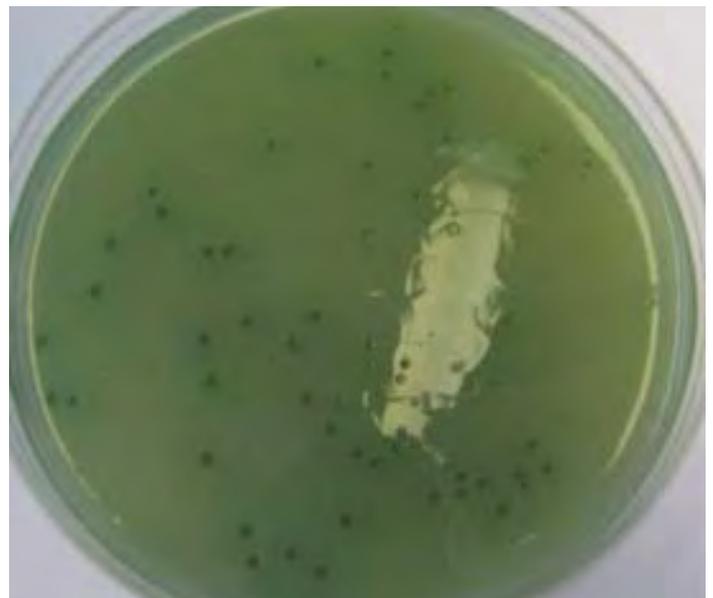


Рис. 6. Рост тест-штамма *P. vulgaris* HX 19 222 на BCA.

- колонии *Proteus vulgaris* НХ 19 222 – круглые, гладкие, полупрозрачные, желтоватые со слабым пожелтением среды, возможно образование темного центра, диаметром от 1,0 до 2,5 мм;

- колонии *Morganella morganii* 1518 – круглые, гладкие, полупрозрачные, розового цвета, диаметром от 1,5 до 2,5 мм.

Дальнейшая идентификация выделенных культур проводится по общепринятой схеме.

Представители рода *Proteus* ферментируют глюкозу с образованием кислоты и небольшого количества газа, не ферментируют лактозу и маннит, устойчивы к цианиду, образуют уреазу и фенилаланиндезаминазу. Опорными тестами для идентификации бактерии рода *Proteus* являются: дезаминирование фенилаланина, реакция на серо-

водород, реакция с метилротом, реакция Фогес–Проскауэра, разжижение желатина. Виды дифференцируют по дополнительным биохимическим тестам, представленным в таблице.

Для определения уреазы используются среды, в составе которых присутствует мочевины (среда Олькеницкого и ее модификации).

На питательной среде для первичной идентификации энтеробактерий (железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной) – аналоге среды Олькеницкого утилизацию мочевины учитывают по изменению исходного цвета среды на яркомалиновый, ферментацию лактозы учитывают по изменению цвета скошенной части среды на желтый, глюкозы – по изменению цвета столбика среды на желтый, газообразование – по появлению пузырьков воздуха или разрыва



Рис. 7. Рост тест-штамма *P. mirabilis* 3177 на агаре Мосселя.



Рис. 8. Рост тест-штамма *P. mirabilis* 3177 на XLD-агаре.

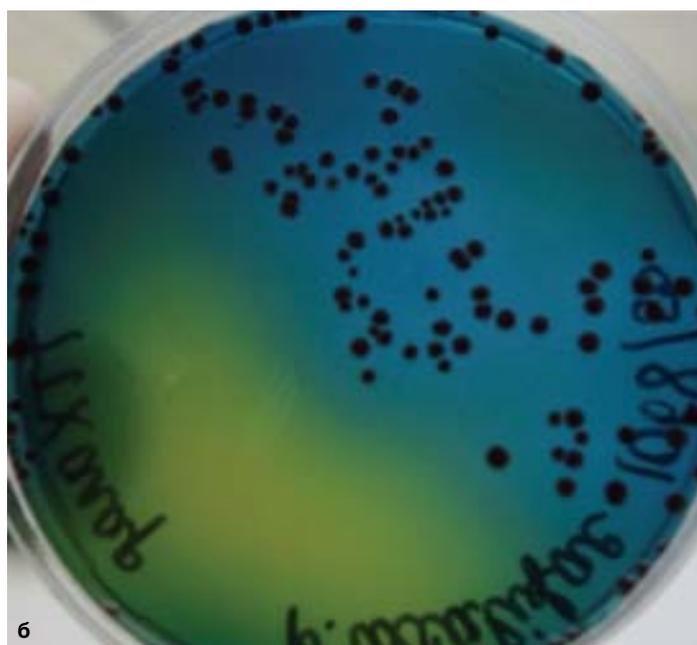
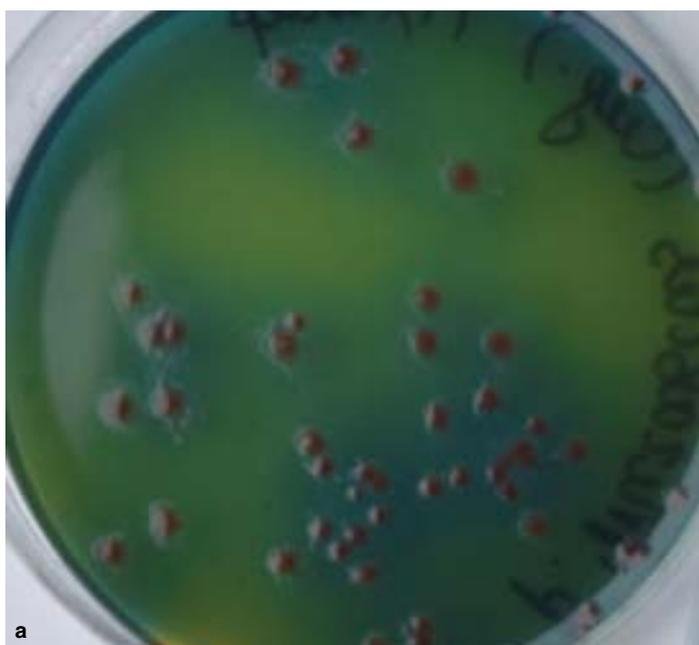


Рис. 9. Рост тест-штаммов на лактозном ТТХ агаре с тергитолом 7: а – *P. mirabilis* Сиднеев; б – *P. alcalifaciens* NCTC 1068-50.

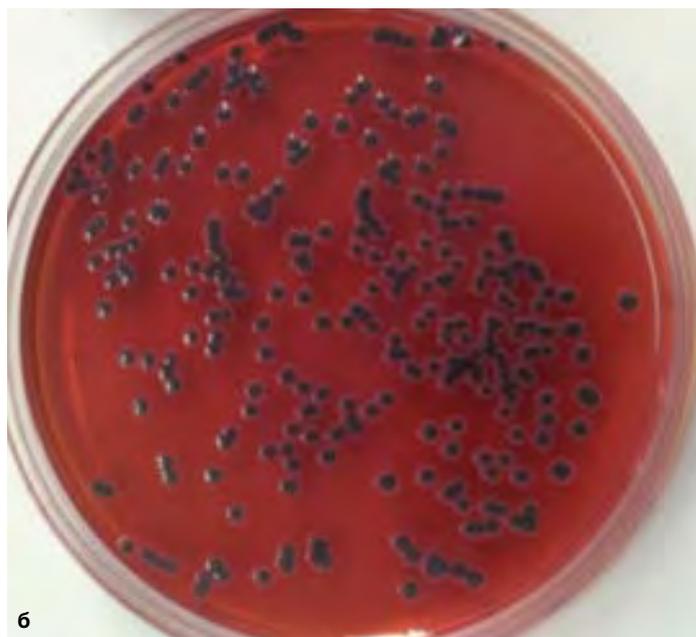
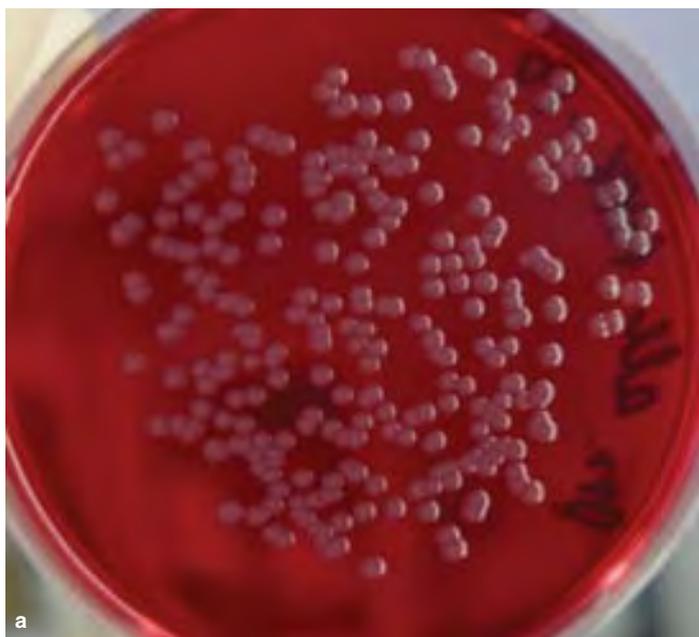


Рис. 10. Рост тест-штаммов на дифференциально-диагностической питательной среде для выделения протеев: а – *P. alcalifaciens* NCTC 1068-50, б – *P. mirabilis* 3177.

Таблица. Основные биохимические признаки протеев

Признак	<i>P. mirabilis</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>P. alcalifaciens</i>	<i>P. rettgeri</i>	<i>P. stuartii</i>
Ферментация					
Глюкозы	+	+	+	+	+
Мальтозы	-	+	-	-	-
Арабинозы	-	-	-	-	-
Сахарозы	-	+	-	-	в
Маннит	-	-	-	+	-
Лактоза	-	-	-	-	-
Уреаза	+	+	-	+	в
Индол	-	+	+	+	+
H ₂ S	+	+	-	-	-
Орнитин	+	-	-	-	-

(+) – положительный признак; (-) – отрицательный признак.

среды в столбике, образование сероводорода – по почернению среды в столбике (рис. 11).

Важнейший признак протеев, отличающий их от прочих энтеробактерий, – способность дезаминировать фенилаланин. Питательная среда для дифференциации энтеробактерий по тесту дезаминирования фенилаланина (Фенилаланин-агар) используется для дифференциации *Proteus* spp., *Providencia* spp. и *Morganella* spp. от других энтеробактерий по признаку дезаминирования фенилаланина до фенилпиروиноградной кислоты. Культуры микроорганизмов, дезаминирующие фенилаланин, после внесения треххлористого железа изменяют цвет поверхности среды и конденсата на дне пробирки со светло-желтого на зеленый; не дезаминирующие фенилаланин – не изменяют цвет среды и конденсата.

Выводы

Достоверным методом диагностики протейной инфекции является бактериологический метод с использованием питательных сред для выделения и изучения культурально-морфологических признаков бактерий.

Новая дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения протеев предназначена для выделения и визуальной идентификации бактерий рода протей, провиденции и морганелл из различного клинического материала, а также для получения информации о потенциально патогенных бактериях – возбудителях внутрибольничных инфекций. Наличие в среде кристаллического фиолетового и полимиксина В значительно ингибирует рост грамположительных микроорганизмов и большинства представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Среда обеспечивает внутривидовую дифференциацию протеев по способности образовывать сероводород.

Использование совокупности новых и ранее разработанных эффективных отечественных питательных сред для вы-



Рис. 11. Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной (аналог Олькеницкого). Слева направо: контроль (незасеянная среда); рост тест-штаммов: *P. alcalifaciens* NCTC 1068-50, *P. vulgaris* HX 19222, *P. mirabilis* Сиднеев.

деления и идентификации протеев позволит усовершенствовать методы микробиологического анализа при диагностике инфекционных заболеваний.

Литература

1. Кондакова ГВ. Санитарная микробиология. Ярославль: ЯрГУ; 2005, 84 с.
2. Литусов НВ, Сергеев АГ, Григорьева ЮВ, Ишутинова ВГ. Микрофлора окружающей среды и тела человека. Учебное пособие. Екатеринбург, 2008, 28 с.
3. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов СанПиН 2.3.2.1078-01 (с изменениями на 6 июля 2011 г.).
4. Шепелин АП, Дятлов ИА, Полосенко ОВ. Микробиологический контроль качества пищевой продукции. Бактериология. 2017;2(2):39-47. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-2-39-47
5. Веткина ИФ, Комаринская ЛВ, Ильин ИЮ, Соловьева МВ. Современный подход к выбору дезинфицирующих средств в системе профилактики внутрибольничных инфекций (ВБИ). ФАРМиндекс-Практик. 2005;7:13-20.
6. Методика. Индикации бактерий рода «Протеус» в кормах животного происхождения. 1981 г. (Дата актуализации 01.01.2019) утв. Главным управлением ветеринарии МСХ СССР.
7. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 г., №535. М., 1985, 126 с.
8. Шепелин АП, Дятлов ИА. Питательные среды для энтеробактерий. Монография. М.: Изд. Династия; 2017, 232 с.
9. Шепелин АП, Марчихина ИИ, Полосенко ОВ, Шолохова ЛП, Ажермачева НИ, Доброхотский ОН, Борзенкова ТХ. Клинические испытания агара и бульона Моссея. Клиническая лабораторная диагностика. 2017;62(10):631-5. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-10-631-635
10. Мартовецкий МН, Шепелин АП, Марчихина ИИ, Шолохова ЛП, Полосенко ОВ. Разработка питательных сред для выделения протеев и клебсиелл. Инфекция и иммунитет. 2016;6(3):66.

References

1. Kondakova GV. Sanitarnaya mikrobiologiya [Sanitary Microbiology]. Yaroslavl; 2005, 84 p. (In Russian).
2. Litusov NV, Sergeev AG, Grigor'eva YuV, Ishutinova VG. Mikroflora okruzhayushchei sredy i tela cheloveka. Ekaterinburg, 2008, 28 p. (In Russian).

3. Sanitary and epidemiological rules and regulations. Hygienic requirements for the safety and nutritional value of food SanPiN 2.3.2.1078-01 (as amended on July 6, 2011). (In Russian).
4. Shepelin AP, Dyatlov IA, Polosenko OV. Microbiological control of food products quality. Bacteriology. 2017;2(2):39-47. DOI: 10.20953/2500-1027-2017-2-39-47 (In Russian).
5. Vеткина IF, Komarin'skaya LV, Il'in IYu, Solov'eva MV. Sovremennyy podkhod k vyboru dezinfitsiruyushchikh sredstv v sisteme profilaktiki vnutribol'nichnykh infektsii (VBI). FARMindex-Praktik. 2005;7:13-20. (In Russian).
6. Method. Indications of bacteria of the genus "Proteus" in animal feed. 1981 (date of updating 01.01.2019) approved. The main Department of veterinary medicine of the Ministry of agriculture of the USSR. (In Russian).
7. On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical and diagnostic laboratories of medical institutions: Order of the Ministry of health of the USSR from 22.04.1985, No. 535. Moscow, 1985, 126 p. (In Russian).
8. Shepelin AP, Dyatlov IA. Pitatel'nye sredy dlya enterobakterii. Moscow: "Dynasty" Publ.; 2017, 232 p. (In Russian).
9. Shepelin AP, Marchikhina II, Polosenko OV, Sholokhova LP, Azhermacheva NI, Dobrokhotsky ON, Borzenkova TKh. The clinical trials of agar and mossa ee broth. Russian Clinical Laboratory Diagnostics (Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika). 2017;62(10):631-5. DOI: 10.18821/0869-2084-2017-62-10-631-635 (In Russian).
10. Martovetskii MN, Shepelin AP, Marchikhina II, Sholokhova LP, Polosenko OV. Razrabotka pitatel'nykh sred dlya vydeleniya proteev i klebsiell. Infektsiya i immunitet (Russian Journal of Infection and Immunity). 2016;6(3):66. (In Russian).

Информация об авторе:

Полосенко Ольга Вадимовна, кандидат бионических наук, ведущий научный сотрудник сектора микробиологических исследований лаборатории микробиологических и физико-химических методов анализа НПО ПС ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0020
 E-mail: polosenko@obolensk.org

Information about author:

Olga V. Polosenko, PhD (Biology), leading researcher, microbiological research sector, laboratory of microbiological and physico-chemical methods of analysis, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0020
 E-mail: polosenko@obolensk.org

Способ снижения риска передачи воздушно-капельных инфекций посредством обработки воздуха помещений

О.И.Чубатова¹, Е.Г.Михайлова², Е.В.Скрипникова³, О.Н.Доброхотский⁴, Т.Х.Борзенкова⁴, Н.В.Негрий⁴

¹ООО «ЭРБИ», Москва, Российская Федерация;

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Москва, Российская Федерация;

³Тамбовский государственный университет им. Г.Р.Державина, Тамбов, Российская Федерация;

⁴Медико-санитарная часть №164 ФМБА России, рп Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Показана возможность снижения риска распространения воздушно-капельных инфекций путем санации воздушной среды помещений разного назначения препаратами на основе фитонцидов и улучшения условий труда персонала. **Ключевые слова:** экология замкнутых пространств, микробная контаминация (МК), воздушное пространство помещения (ВПП), санация помещений, фитонциды (ФЦ)

Для цитирования: Чубатова О.И., Михайлова Е.Г., Скрипникова Е.В., Доброхотский О.Н., Борзенкова Т.Х., Негрий Н.В. Способ снижения риска передачи воздушно-капельных инфекций посредством обработки воздуха помещений. Бактериология. 2019; 4(3): 38–43. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-38-43

A method for reducing the risk of transmission of airborne infections through indoor air treatment

O.I.Chubatova¹, E.G.Mikhaylova², E.V.Skripnikova³, O.N.Dobrokhotsky⁴, T.H.Borzenkova⁴, N.V.Negriy⁴

¹LLC «ERBI», Moscow, Russian Federation;

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation;

³Derzhavin Tambov State University, Tambov, Russian Federation;

⁴Medical-Sanitary Department No. 164 of the FMBA of Russia, Obolensk, Russian Federation;

The possibility to reduce the risk of spreading airborne infections by sanitizing the air of various premises and improving the working conditions of personnel with phytoncides preparations has been shown.

Keywords: ecology of closed spaces, microbial contamination, air space of premises, sanitation of premises, phytoncides

For citation: Chubatova O.I., Mikhaylova E.G., Skripnikova E.V., Dobrokhotsky O.N., Borzenkova T.H., Negriy N.V. A method for reducing the risk of transmission of airborne infections through indoor air treatment. Bacteriology. 2019; 4(3): 38–43. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-38-43

В настоящее время проблема экологии среды пребывания человека встает очень остро. Недостаточные эффективность и стабильность методов санации воздуха помещений, где присутствует микробный аэрозоль, связанный, в том числе, со спецификой профессии, повышают риск возникновения заболеваний микробной этиологии. В стоматологических кабинетах аэрозоль представляет собой сложный конгломерат микроорганизмов, пыли, химических веществ. Обработка воздушного пространства каби-

нета между приемами пациентов не всегда возможна, особенно если там работают два или три врача. Высокий уровень риска перекрестного инфицирования отмечается и в других помещениях лечебно-профилактических учреждений, когда в палате находятся больные с воспалительными процессами различной микробной этиологии.

Состав микробного аэрозоля достаточно сложный и в учебных аудиториях, где постоянно происходит смена обучающихся, особенно в осенне-зимний период. Появление

Для корреспонденции:

Чубатова Ольга Игоревна, кандидат биологических наук, директор по производству ООО «ЭРБИ»

Адрес: 123308, Москва, ул. 4-я Магистральная, 11/2, оф. 213
Телефон: (495) 532-0232
E-mail: coi@erbilika.com

For correspondence:

Olga I. Chubatova, Candidate of Biological Sciences, Production Director of ERBI LLC

Address: office 213, 4th Magistralnaya str., 11/2, Moscow, 123308, Russian Federation
Phone: (495) 532-0232
E-mail: coi@erbilika.com

The article was received 09.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

Статья поступила 09.08.2019 г., принята к печати 26.09.2019 г.

в помещении одного или двух носителей золотистого стафилококка или других микроорганизмов повышает риск инфицирования, особенно для людей с ослабленной иммунной системой. В зону риска попадают и обучающиеся, и преподаватели.

С учетом проблемы возникновения устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам и постоянства пополнения воздушного пространства микробным аэрозолем необходим поиск дополнительных мер. Для помещений, в которых одновременно находятся много людей, представляет интерес применение фитопрепаратов для санации воздуха. Фитопрепараты содержат в составе комплексы активных соединений, в том числе группы фитонцидов (терпенов, смолистых веществ, фенолов). Каждое соединение воздействует на разные структуры микробной клетки, поэтому к фитонцидам не возникает устойчивости микроорганизмов. Фитомолекулы естественны для человека, многие из них являются предшественниками эндогенных соединений, поэтому крайне важны, особенно при длительном пребывании в замкнутом пространстве [1, 2]. По мнению профессора Корниловой З.Х., руководившей исследованиями по применению препаратов с фитонцидами в противотуберкулезных учреждениях, данную технологию снижения уровня микробной контаминации (МК) воздушного пространства можно применять как метод ранней реабилитации больных туберкулезом. «Насыщение воздуха специальными композициями фитопрепаратов обеспечивает снижение уровня МК воздушного пространства и при этом оказывает выраженное положительное влияние на организм человека, что выявлено при анализе клинических показателей больных туберкулезом за весь период их лечения (не менее 60 дней)» [3].

При поддержке Международного фонда биотехнологии им. академика И.Н.Блохиной средства на основе фитонцидов были изучены при аэрозольной обработке воздушного пространства помещений (ВПП) в учреждениях социальной сферы. Показано, что технология обеспечивает быстроту и тотальность профилактических мероприятий и создает условия для снижения уровня заболеваемости острыми респираторными вирусными инфекциями (ОРВИ) и острыми респираторными заболеваниями (ОРЗ) в среднем на 30% [4].

Цель данного исследования – оптимизация методов и схем применения технологии снижения риска распространения инфекций.

Материалы и методы

Исследования проводились на базе кафедры стоматологии РНИМУ им. Н.И.Пирогова, кафедры природопользования и землеустройства ТГУ им. Г.Р.Державина, кафедры обработки кожи и меха МГТУ дизайнера технологий, в офисном здании ПАО «Северсталь» и офисных помещениях (МШУ «Сколково», БЦ «Магистраль»). В качестве контроля обследовали помещения со сходными характеристиками, где технология не применялась.

В число участников ($n = 580$) входили врачи, преподаватели, студенты, пациенты, офисные служащие. Все участники прошли тест на индивидуальную чувствительность к компонентам средств.

Применяли средства бытовой химии производства ООО «ЭРБИ», содержащие экстракты и эфирные масла из лекарственных растений, перечень которых указан на этикетке.

Обработку ВПП проводили методом распыления средств.

1) Средства на водной основе – жидкие гели – распыляли вручную с помощью флаконов, оснащенных курковыми или кнопочными механическими распылителями ($v = 150, 750$ мл) с дозированным объемом при одном нажатии. Расход средств на однократную обработку $0,2$ мл/1 м³. Распыление проводили вверх под углом 45°, помещения обрабатывали равномерно по всей площади. При обработке труднодоступных мест направление распыления выбирали по ситуации. Стандартную обработку проводили дважды (утром и вечером); в школьных аудиториях – утром, перед уборкой или на большой перемене.

2) Фитоконцентраты на водной основе в полимерных флаконах ($v = 50, 100$ мл), укомплектованные мерным колпачком или мерной ложечкой. Рекомендуемый расход $0,04$ мл/1 м³/сут. Расчетную дозу фитоконцентрата разводили в воде. Рабочий раствор распыляли с помощью ультразвуковых приборов (аромадиффузоров, увлажнителей воздуха), турбинных распылителей, генераторов холодного тумана, небулайзеров или другой аппаратуры.

3) Фитоконцентраты на основе изопропилмиристата в полимерных флаконах ($v = 100$ мл), укомплектованные накручивающейся крышкой. Рекомендуемый расход – $0,02$ мл/1 м³/сут. Фитоконцентрат распыляли с помощью аппаратов холодной диффузии или небулайзеров с программным обеспечением. Режим автоматического распыления регулировали в зависимости от параметров помещения и интенсивности его эксплуатации.

Выбор средств и приборов, а также место их размещения и последовательность использования обсуждали ситуативно.

Обработки проводили в присутствии людей без нарушения режима работы.

Уровень контаминации оценивали по показателю ОМЧ (общее микробное число в 1 м³ воздуха), а также количеству плесневых грибов и золотистого стафилококка в 1 м³ воздуха подсчетом числа КОЕ (колониеобразующих единиц), на чашках согласно существующим нормативам контроля микробиологической чистоты воздушного пространства и поверхностей (СанПиН 2.1.3.2630-10, Р.3.5.1904-04). Использовали среды ФГРМ, солевой агар, среду Сабуро. Уровень МК учитывали независимо от характеристики вентиляционной системы и применения стандартных методов санации. Все данные зафиксированы в официальных протоколах.

Результаты и обсуждение

Мониторинг МК воздушного пространства в учреждениях медицинской, учебной и других видов деятельности, который проводился одновременно с началом применения средств на основе фитонцидов, показал, что микробный пейзаж зависит от времени и места отбора проб, числа людей в помещении и сезона года. Показатель МК колебался в диапазоне от 50 до 1800 КОЕ/м³ по общему микробному числу и от 0 до 150 КОЕ/м³ по числу плесневых грибов и мог

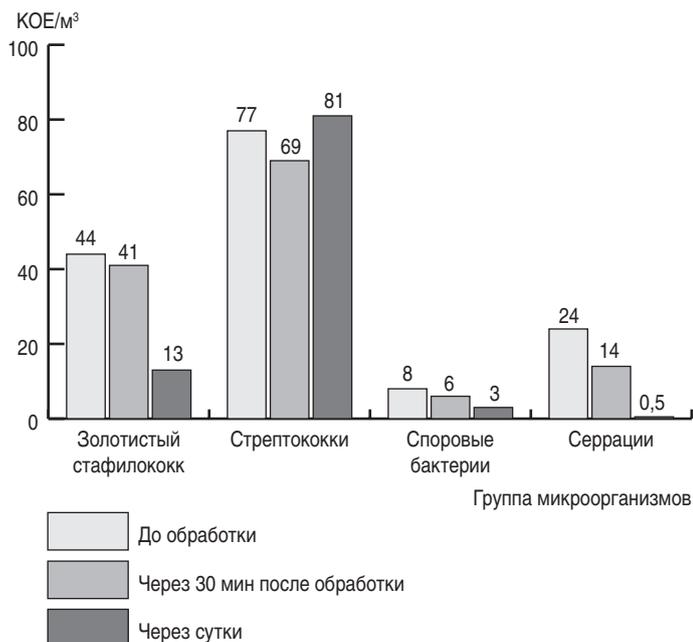


Рис. 1. Снижение числа отдельных видов бактерий после применения фитопрепаратов (число кабинетов: $n = 4$; точек отбора проб в каждом кабинете $n = 3$ в пяти повторах).

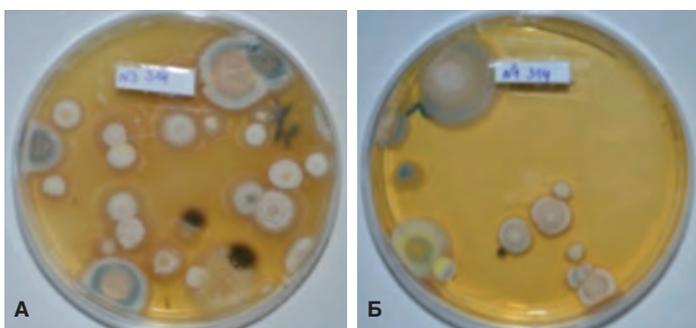


Рис. 2. Снижение числа плесневых грибов в ВПП стоматологии. Фотографии чашек с пробами воздуха до (А) и после (Б) обработки.

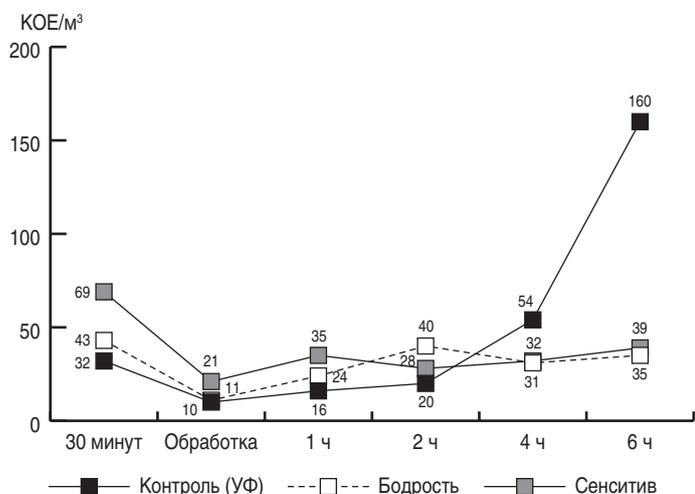


Рис. 3. Динамика ОМЧ (КОЕ/м³) в кабинете первичного приема отделения стоматологии.

превышать допустимые нормы по ОМЧ и по присутствию золотистого стафилококка. Например, в кабинете стоматолога после приема 5–6 человек показатель ОМЧ/м³ составлял в среднем 580 КОЕ/м³, а после 8–9 – 840 и выше. В рабочем режиме кабинета проводили обработку ВПП мануальным распылением. Это обеспечило снижение ОМЧ до уровня 180 КОЕ/м³ через 30 мин.

Исследования в разных поликлиниках показали, что обычно в одном кабинете работают 2–4 врача, а средний уровень показателей ОМЧ составлял от 470 до 1300 КОЕ/м³. К концу смены в микробном аэрозоле обнаруживали золотистый стафилококк, серрации, стрептококки, число которых колеблется от 8 до 80 КОЕ/м³. Мануальная обработка фитоспреями приводила к снижению числа бактерий, в том числе бактерий 3–4-й группы патогенности. На рисунке 1 представлены усредненные результаты экспериментов по изучению влияния средств на отдельные виды бактерий в стоматологических кабинетах: общего назначения, ортопедии, хирургии и пародонтологии.

Из рисунка 1 видно, что уже через 30 мин после обработки число бактерий уменьшалось. Через сутки число стафилококков, споровых форм бактерий и серраций снижалось в среднем в 2,5–3,5 раза. В отдельных экспериментах было зафиксировано снижение числа стафилококков в 10 раз. Влияние на количество стрептококков, в большинстве своем представляющих нормофлору, не выявлялось. Одновременно происходило снижение обсемененности ВПП плесневыми грибами (рис. 2).

Динамику МК на фоне применения препаратов изучали путем интервального отбора проб в кабинете стоматолога. В исследуемом кабинете размещалось одно стоматологическое кресло, работают 1 врач и 1 ассистент, прием 1 пациента длится 30–40 мин и за одну смену врач успевает принять 8 пациентов. Было установлено, что однократное применение препаратов в начале рабочей смены позволяет сохранять низкий уровень контаминации воздуха в течение всей смены, тогда как при обработке ультрафиолетом уровень МК постепенно нарастает (рис. 3).

Микробный пейзаж в аудиториях кафедры природопользования и землеустройства ТГУ им. Державина и кафедры технологий обработки кожи и меха МУДТ отличался повышенным числом плесневых грибов: 44–78 КОЕ/м³ (норма 5–10 КОЕ/м³). Это связано с высокой посещаемостью аудиторий, осенним периодом проведения исследований и спецификой исследовательских работ: изучение образцов почв или кожевенного сырья. Результаты работ показали, что применение технологии перед началом проведения практических занятий снижало МК плесневыми грибами, независимо от видов обнаруженных микросообществ плесневых грибов, а также устраняло неприятные запахи, которые связанные со спецификой научных экспериментов (рис. 4).

Анализ эффективности средств с фитонцидами позволил разработать новые перспективные планы их применения: например, для обработки меха, кожи или готовых изделий из кожи, а также для профилактической обработки почв в теплицах.

Обобщение результатов всех исследований выявило тенденцию: чем выше исходный уровень микробной контаминации,

нации ВПП, тем заметнее эффект от действия средств с фитонцидами, независимо от их композиционного состава.

Изучение МК воздуха офисных зданий показало, что наиболее высокий уровень отмечается в лифтах и лифтовых холлах, особенно утром и в обеденные перерывы: например, 1800 КОЕ по общему микробному числу и до 500 КОЕ по золотистому стафилококку. В таблице 1 представлена схема исследования МК с результатами высевов проб воздуха в одном из офисных зданий. Исходный уровень контаминации, по согласованию, фиксировали в день установки приборов для автоматизированного распыления средств.

Из полученных данных видно, что в офисе наблюдается низкий уровень МК, но присутствуют стафилококки. В прилегающих помещениях – лифте и лифт-холле выявлен высокий уровень общей МК и золотистого стафилококка. Причиной этого, по-видимому, является специфическая изоляция лифта и лифт-холла посредством герметичной двери. В таком помещении одновременно может находиться значительное число сотрудников из разных офисов и посетителей с других этажей, среди которых могут быть носители бактерий, например, золотистого стафилококка. Образуется своеобразная зона «застоя воздуха», и она становится зоной риска для здоровья сотрудников с ослабленным иммуни-

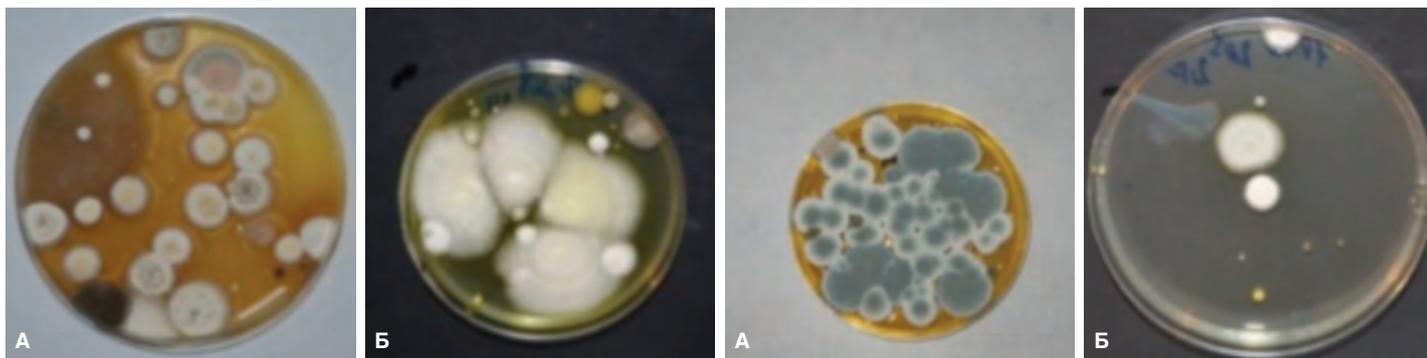


Рис. 4. Снижение числа плесневых грибов в ВПП аудитории кафедры землеустройства до (А) и после (Б) применения обработки воздуха.

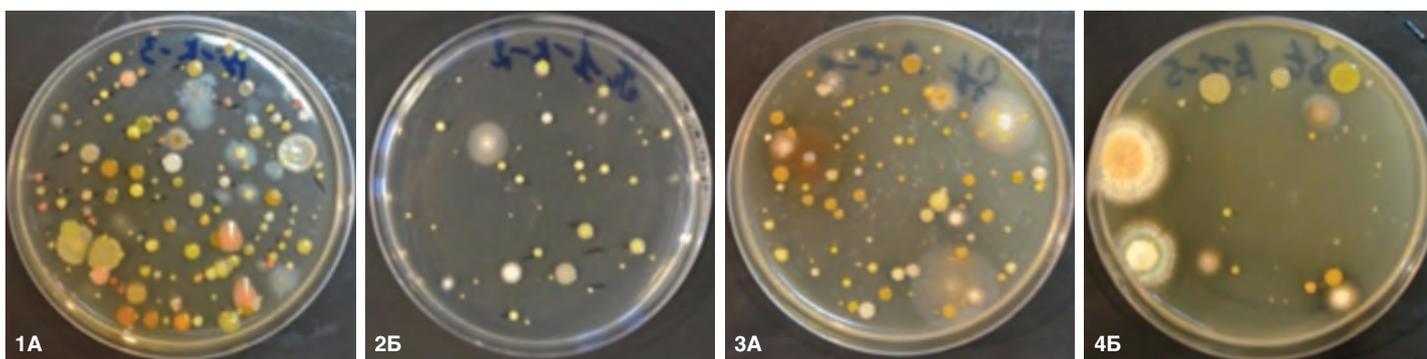
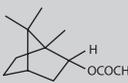
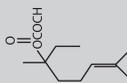
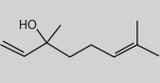


Рис. 5. Снижение числа микроорганизмов после применения технологии обработки воздушного пространства в офисном помещении. 1, 2 – среда ФГРМ; 3, 4 – солевой агар; А – исходный уровень МК; Б – после обработки.

Дата	Помещения	Среды, МК ФГРМ, КОЕ/м ³ Объем пробы 100 л		Сабуро, КОЕ/м ³ Объем пробы 200 л		Солевой МПА, КОЕ/м ³ Объем пробы 100 л	
		Иssl.*	Норма	Иssl.	Норма	Иssl.	Норма
02.03.19	Уровень контаминации исходно, до проведения обработки						
	Офис	107*	до 1500	12	до 20	46	0
	Лифт/холл	1860*	до 1500	0	до 20	1540	0
14.03.19	Уровень контаминации после 12 дней ежедневной обработки						
	**Особые меры: на основании выявленного исходного высокого уровня МК после проведения стандартных замеров была проведена специальная обработка вручную лифта и лифт-холла. Через 30 мин после обработки сделан повторный отбор проб воздуха.						
	Офис	60	до 1500	5	до 20	0	Отсутств.
	Лифт/холл	210	до 1500	0	до 20	20	Отсутств.
	Лифт/холл**	10	до 1500	–	до 20	0!!!	Отсутств.
28.05.19	Уровень контаминации после 24 дней ежедневной обработки						
	Офис	52	до 1500	0	до 20	0	Отсутств.
	Лифт/холл	80	до 1500	1	до 20	0	Отсутств.

*Указано среднее значение по всем точкам отбора в трех повторах. Число сотрудников в офисе = 112, S = 240 м², H = 6,2 м, 5 точек. Число посетителей лифта более 200 в час, S = 24 м², H = 3,2 м, 4 точки. Использовали средство Erbilika™ IPM Режим: 21-9 ч (с 22:00 до 7:00, интервал – 30 мин); расход 0,002 мл/м³/сут.

Таблица 2. Содержание активных соединений в эфирных маслах растений.

ФЭ/основные компоненты	Пинен	Карвакрол	Тимол	Борнилацетат	Линалоол	Линалилацетат	
							
Сосна		21–50	0,1	0,5	3–28	1–2	0,4
Монарда		0,9	19	48–57	0,5	0,4	0,8
Бархатцы		0,4	35–60	0,1	0	1–3	1–5
Шалфей		0,1–0,5	0	0	2–5	10–15	38–73

тетом. Поэтому в день проведения планового повторного забора проб воздуха была проведена дополнительная локальная обработка лифта и лифт-холла вручную при помощи кнопочного распылителя с дозатором и через 30 мин отобраны дополнительные пробы воздуха. Результаты повторного отбора проб показали, что обработка офисного помещения привела к значительному снижению обсемененности воздуха стафилококком и снижению показателей МК в смежных помещениях. Эффект такой санации прилегающих помещений обеспечило быстрое распространение легколетучих молекул фитонцидов в воздушном пространстве. Тем не менее, в связи со спецификой воздухообмена в лифт-холле, было рекомендовано разместить прибор для распыления фитопрепаратов над лифтом. Снижение числа бактерий в лифте через 30 мин после мануального применения фитопрепарата подтвердило данные, полученные ранее при ситуативном использовании средств. На рисунке 4 представлены фото чашек с колониями бактерий до (А) и после (Б) мануальной обработки ВПП в кабинете для переговоров офисного здания во время обеденного перерыва, где наглядно видно снижение числа бактерий.

Многолетнее использование технологии в здании, где работают сотрудники одного учреждения, позволяет констатировать сохранение низкого (до 150 КОЕ/м³) уровня МК воздуха независимо от сезона года и числа посетителей, в том числе из других регионов страны. Установлено, что улучшение ситуации по микробиологическим показателям обеспечивает снижение уровня заболеваемости ОРВИ в среднем на 30%. Эффективность применения технологии по заболеваемости, как правило, фиксируют сотрудники отдела охраны труда, а оценку по уровню МК учреждение может провести самостоятельно, если есть бактериологическая лаборатория, или пригласить независимых экспертов.

Эффективность технологии основана на дозированном распылении средств на основе специальных композиций активных веществ разной химической природы (липофиль-

ных и гидрофильных соединений). Композиции составлены из фитоизвлечений с выраженной бактерицидной и фунгицидной активностью, которые применяются в медицине как самостоятельно, так и в сочетаниях. В используемых концентрациях средства обеспечивают снижение микробной контаминации воздушного пространства. В таблице представлены растения и содержание основных действующих веществ.

Содержание указанных компонентов, а также наличие камфена, о-цимена и гераниола в готовых рецептурных формулах проверяется с помощью газожидкостной хроматографии, а воздействие их на разные штаммы бактерий и грибов – методом нанесения препарата на бактериальный газон.

За весь период исследования – 2009–2019 гг. аллергических реакций на используемые препараты не выявлено.

Отмечено положительное отношение участников исследования к методу обработки воздушного пространства: 90% отметили свежесть запахов и улучшение настроения.

Заключение

Мониторинг качества воздушной среды помещений социального назначения выявил локальные зоны превышения МК. Исследуемая технология обеспечивает снижение уровня МК воздушной среды помещений в 2,5–10 раз и обеспечивает улучшение качества воздуха в помещении.

Улучшение условий труда путем насыщения воздуха фитонцидами и другими полезными для человека активными веществами из растений повышает уровень коллективной безопасности и снижает риск распространения воздушно-капельных инфекций.

Результаты исследования применения средств с фитонцидами и возможность оптимизации схем их применения, особенно при наличии специфического микробного аэрозоля, указывают на перспективность развития новых методов экологии замкнутых пространств.

Благодарности

Коллектив авторов выражает благодарность за оказанную помощь и поддержку в проведении исследований: Федотову А.В. – заместителю административного директора, главному инженеру АО «Северсталь Менеджмент»; Обуховой Т.С. – менеджеру службы эксплуатации АО «Северсталь Менеджмент»; Копецкому И.С. – д.м.н., профессору, зав. кафедрой терапевтической стоматологии РНИМУ им. Н.И.Пирогова; Чирковой Н.А. – к.х.н., доценту кафедры обработки кожи и меха, РГУ им. А.Н.Косыгина; Грошенко Г.Ю. – директору Департамента управления инфраструктурой МШУ Сколково; Петрову Т.В. – генеральному директору ООО «ЭРБИ».

Литература

1. Виноградова ТА, Гажев БН, Виноградов ВМ, Мартынов ВК. Практическая фитотерапия. М.: Эксмо-пресс; СПб.: VALERI-SPO; 2001, 638 с.
2. Николаевский ВН. Справочник ароматерапии. М., 2001.
3. Ивашов СВ, Михайлова ЕГ, Борзенкова ТХ, Вострокнутова ГН, Негрий НВ, Ступин АЮ, и др. Антимикробная активность средств на основе фитоэкстрактов для обработки воздуха помещений лечебно-профилактического назначения. Растительные ресурсы. 2012;48(1):127-37.
4. Михайлова ИВ, Черный ЕВ, Корнилова ЗХ, и др. Инновации в области профилактики туберкулеза. Безопасность жизнедеятельности. 2014;3:58-68.
5. Овчинников ВГ, Сентябрев НН, Чубатова ОИ, Камчатников АГ, Ракова ЕВ, Щедрина ЕВ. Экспериментальное обоснование принципов составления композиций эфирных масел. Современные проблемы науки и образования. 2014;2:98-103.

References

1. Vinogradova TA, Gazhev BN, Vinogradov VM, Martynov VK. Prakticheskaya fitoterapiya. Moscow: "Eksmo-press" Publ.; St. Petersburg: "VALERI-SPO" Publ.; 2001, 638 p. (In Russian).
2. Nikolaevskii VN. Spravochnik aromaterapii. Moscow, 2001. (In Russian).
3. Ivashov S.V., Mikhailova E.G., Borzenkova T. Kh., Vostroknutova G.N., Negrii N.V., Stupin A. Yu., et al. Estimation of antimicrobial activity of liposomal extracts of some plant species for room air treatment. Rastitelnye Resursy. 2012;48(1):127-37. (In Russian).
4. Mikhailova IV, Chernyi EV, Kornilova ZKh, et al. Innovatsii v oblasti profilaktiki tuberkuleza. Bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti. 2014;3:58-68. (In Russian).
5. Ovchinnikov VG, Sentyabrev NN, Chubatova OI, Kamchatnikov AG, Rakova EV, Schedrina EV. Experimental basis of the principles of composition of essential oils. Modern Problems of Science and Education. 2014;2:98-103. (In Russian).

Информация об авторах:

Михайлова Екатерина Григорьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапевтической стоматологии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 123478, Москва, ул. Островитянова, 1, корп. 4
Телефон: (495) 434-00-0
E-mail: grekmix@yandex.ru

Скрипникова Елена Владимировна, кандидат сельскохозяйственных наук, доцент, директор Института естествознания Тамбовского государственного университета им. Г.Р.Державина
Адрес: 392000, Тамбов, Комсомольская площадь, 5
Телефон: (4752) 72-3434, доб. 2045
E-mail: elena.sk@mail.ru

Доброхотский Олег Нарьевич, кандидат медицинских наук, заместитель начальника Медико-санитарной части №164 ФМБА России по санитарно-эпидемиологическим вопросам, главный врач противочумной станции
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский район, гп. Оболенск
Телефон: (4967) 36-0081
E-mail: oleg_dobr@mail.ru

Борзенкова Татьяна Халитовна, заведующая бактериологической лабораторией, врач-бактериолог противочумной станции Медико-санитарной части №164 ФМБА России
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский район, гп. Оболенск
Телефон: (4967) 36-0081

Негрий Наталья Владимировна, врач-бактериолог бактериологической лаборатории противочумной станции Медико-санитарной части №164 ФМБА России
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский район, гп. Оболенск
Телефон: (4967) 36-0081

Information about authors:

Ekaterina G. Mikhailova, Candidate of Medical Sciences, associate professor, department of therapeutic dentists, Pirogov Russian National Research Medical University
Address: build. 4, 1 Ostrovityanova st. Moscow 123478
Phone: (495) 434-0030
E-mail: grekmix@yandex.ru

Elena V. Skripnikova, PhD in Agricultural Sciences, Director Institute of Natural Sciences, Derzhavin Tambov State University
Address: 5 Komsomolskaya Sq., Tambov, 392000, Russian Federation
Phone: (4752) 72-3434, ext. 2045
E-mail: elena.sk@mail.ru

Oleg N. Dobrokhotsky, Candidate of Medical Sciences, deputy head of the Medical-Sanitary Department No. 164 of the FMBA of Russia on sanitary and epidemiological issues, head physician of the Anti-Plague Station
Address: Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0081
E-mail: oleg_dobr@mail.ru

Tatyana Hk. Borzenkova, head of the bacteriological laboratory, bacteriologist of the Anti-Plague Station Medical-Sanitary Department No 164 of the FMBA of Russia
Address: Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0081

Natalya V. Negrii, bacteriologist, bacteriological laboratory of the Anti-Plague Station Medical-Sanitary Department No. 164 of the FMBA of Russia
Address: Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0081

Оценка эффективности средств на основе фитокомпозиций с антимикробным действием в отношении *Mycobacterium tuberculosis*

Л.В.Домотенко¹, Н.С.Акимова¹, С.И.Акимов¹, О.И.Чубатова², С.А.Чубатова²

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

²ООО «ЭРБИ», Москва, Российская Федерация

Проведена оценка эффективности препаратов на основе фитоэкстрактов из сосны обыкновенной, монарды дудчатой, иссопа лекарственного и бархатцев мелкоцветковых в составе липосом против микобактерий туберкулеза (чувствительных и резистентных штаммов). Показано выраженное антимикробное действие препаратов, обусловленное составом фитоэкстрактов и включением их в липосомы.

Ключевые слова: туберкулез, липосомы, фитоэкстракты, резистентность

Для цитирования: Домотенко Л.В., Акимова Н.С., Акимов С.И., Чубатова О.И., Чубатова С.А. Оценка эффективности средств на основе фитокомпозиций с антимикробным действием в отношении *Mycobacterium tuberculosis*. Бактериология. 2019; 4(3): 44-48. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-44-48

Estimation of efficiency of means on the basis of phytocompositions with antimicrobial action against *Mycobacterium tuberculosis*

L.V.Domotenko¹, N.S.Akimova¹, S.I.Akimov¹, O.I.Chubatova², S.A.Chubatova²

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation;

²LLC «ERBI», Moscow, Russian Federation

The effectiveness of preparations based on phytoextracts from pine, monarda, hyssop, and marigold as a part of liposomes against *Mycobacterium tuberculosis* (sensitive and resistant strains) have been evaluated. A pronounced antimicrobial effect of the drugs due to the composition of phytoextracts and their inclusion in liposomes is shown.

Key words: tuberculosis, liposomes, phytoextracts, resistance

For citation: Domotenko L.V., Akimova N.S., Akimov S.I., Chubatova O.I., Chubatova S.A. Estimation of efficiency of means on the basis of phytocompositions with antimicrobial action against *Mycobacterium tuberculosis*. Bacteriology. 2019; 4(3): 44-48. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-44-48

Многие ошибочно полагают, что минули те времена, когда туберкулез был неизлечим. Именно сейчас, когда появились эффективные лекарственные препараты, туберкулез вернулся в своей новой, устойчивой к большинству известных лекарств, форме – MDR- и XDR-туберкулез. MDR-туберкулез – туберкулез с множественной лекарственной устойчивостью – не поддается лечению

с помощью двух наиболее эффективных противотуберкулезных препаратов – изониазида и рифампицина. Для лечения такого туберкулеза требуются дорогие и токсичные препараты второго ряда. XDR-туберкулез – туберкулез с широкой лекарственной устойчивостью к большинству известных лекарств, практически не поддающийся лечению [1]. По оценке Всемирной организации здраво-

Для корреспонденции:

Чубатова Ольга Игоревна, кандидат биологических наук, директор по производству ООО «ЭРБИ»

Адрес: 123308, Москва, ул. 4-я Магистральная, 11/2, оф. 213

Телефон: (495) 532-0232

E-mail: coi@erbilika.com

Статья поступила 17.08.2019 г., принята к печати 26.09.2019 г.

For correspondence:

Olga I. Chubatova, PhD (Biological Sciences), Production Director of LLC «ERBI»
Address: office 213, 4th Magistralnaya St., 11/2, Moscow, 123308, Russian Federation

Phone: (495) 532-0232

E-mail: coi@erbilika.com

The article was received 17.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

охранения, в 2010 г. зарегистрировано 8,8 млн новых случаев туберкулеза, около 490 тыс. MDR-туберкулеза и около 40 тыс. XDR-туберкулеза [2, 3]. Из-за высоких показателей заболеваемости туберкулез остается самой частой причиной смерти от инфекционных заболеваний по всему миру.

Важную роль в предотвращении распространения туберкулезной инфекции играет проведение дезинфекционных мероприятий. Микобактерии туберкулеза (МБТ) считаются самыми устойчивыми бактериальными организмами, за исключением спор. В прохладном и темном месте МБТ сохраняется до 6–8 мес, в пыли палочка Коха остается жизнеспособной 90–120 дней, в удобрениях – 45 дней, на бумаге – 105 дней, на одежде – 45 дней [4]. Устойчивость микобактериям придает особая гидрофобная структура и низкая проницаемость клеточной стенки. Поэтому дезинфектанты, используемые для обработки воздуха в помещениях целевого назначения, обработки оборудования и поверхностей, должны, помимо бактерицидного, фунгицидного и вирулицидного действий, обладать и туберкулоцидным.

Основная тенденция в разработке современных дезинфицирующих средств – создание композиций без запаха, не содержащих альдегиды, хлор и другие токсичные вещества [5, 6]. Современные дезинфектанты должны обладать высокой антибактериальной активностью и быть безопасными для здоровья людей, животных и окружающей среды.

Использование фитоэкстрактов, обладающих антимикробной активностью, помогает решить эту проблему и позволяет создавать новые, экологически безопасные средства, снижающие количество микроорганизмов в помещениях и способные уменьшить риск возникновения побочных эффектов. Функциональные фитоспреи на основе фитонцидов из лекарственных растений отвечают таким требованиям: они содержат комплексы активных веществ разной химической природы, проявляющих выраженное воздействие на вирусы, бактерии и плесневые грибы. Исследования, проведенные в НИИ биохимии им. Баха (лаборатория биохимии стрессов микроорганизмов, рук. д.б.н., проф. А.С.Капрельянц, г. Москва), показали выраженное бактериостатическое действие указанных средств и их основных активных компонентов: фитоизвлечений из монарды, иссопа и сосны, на дикий чувствительный штамм *Mycobacterium tuberculosis* [7]. Исследования в лаборатории аэриологии свойств средств, проведенные под руководством Потапова В.Д., показали выраженный терапевтический эффект при лечении экспериментального туберкулеза мышей [8].

Цель настоящей работы – изучение туберкулоцидных свойств средств с фитонцидами в отношении микобактерий туберкулеза, как чувствительных, так и обладающих различным спектром лекарственной устойчивости.

Материалы и методы

Испытуемые препараты

В работе использовали два препарата: №1 – средство, содержащее экстракт сосны обыкновенной (*Pinus silvestris*), эфирные масла бархатцев мелкоцветковых (*Tagetes patula*)

и монарды дудчатой (*Monarda fistulosa*) и №2 – средство, содержащее экстракт сосны обыкновенной (*Pinus silvestris*), эфирные масла монарды дудчатой (*Monarda fistulosa*) и иссопа лекарственного (*Hyssopus officinalis*).

Штаммы *M. tuberculosis*

Изучение туберкулоцидных свойств гелей проводили с использованием штамма *M. tuberculosis* H37Rv – чувствительного к лекарственным препаратам, полученного из ГИСК им. Л.А.Тарасевича. Также использовали штамм *M. tuberculosis* PS-09, устойчивый к противотуберкулезным препаратам 1 ряда: рифампицину, изониазиду, этамбутолу; и штамм *M. tuberculosis* mR-01, устойчивый к четырем препаратам 1 ряда (рифампицину, изониазиду, стрептомицину, этамбутолу) и трем препаратам 2 ряда (канамицину, амикацину, капреомицину), полученные из Наднациональной лаборатории ВОЗ (Швеция).

Штаммы хранили в лиофилизированном состоянии при температуре 2–8°C. Перед испытаниями субкультивировали на среде Левенштейна–Йенсена в течение 3–4 нед при температуре (37 ± 1)°C, после чего готовили микробную взвесь каждого штамма, соответствующую мутности 5 единиц по отраслевому стандартному образцу мутности ОСО 42-28-86П. Полученную суспензию каждого штамма разводили в 10 раз (1,0 мл микробной взвеси + 9,0 мл 0,9% раствора NaCl) и получали рабочее разведение культуры 10⁻¹, содержащее около 10⁶ КОЕ/мл.

Питательные среды

Субкультивирование штаммов перед исследованием проводили на яичной среде Левенштейна–Йенсена, приготовленной в соответствии с Приложением №11 «Инструкция по унифицированным методам микробиологических исследований при выявлении, диагностике и лечении туберкулеза» к Приказу №109 МЗ РФ от 21.03.2003.

При изучении туберкулоцидных свойств гелей использовали питательные среды Левенштейна–Йенсена лабораторного изготовления и агаризованную среду Миддлбрука 7H10 с 10% ростовой добавкой OADC производства Vecton Dickinson, США.

Определение лекарственной чувствительности штаммов *M. tuberculosis* к противотуберкулезным препаратам 1 и 2 ряда осуществляли методом абсолютных концентраций в соответствии с Приложением №11 «Инструкция по унифицированным методам микробиологических исследований при выявлении, диагностике и лечении туберкулеза» к Приказу №109 МЗ РФ от 21.03.2003.

Для определения микробиологической чистоты по 0,1 мл каждого геля высевали на среду №1 ГРМ (ФБУН ГНЦПМБ, Оболонск). Посевы инкубировали при температуре (37 ± 1)°C в течение 3 сут и проводили визуальный учет результатов.

Туберкулоцидные свойства гелей изучали в условиях *in vitro* путем воздействия гелей в двух концентрациях на суспензии трех штаммов *M. tuberculosis* из разведения 10⁻¹. В колбочки, содержащие по 10 мл суспензии каждого из трех штаммов, вносили гель из расчета 50 мкл/мл и 100 мкл/мл. Затем колбочки помещали в термостат с температурой (37 ± 1)°C и при периодическом перемешивании инкубировали в течение 24 и 48 ч. По окончании инкубации обработанные суспензии каждого штамма разводили в 0,9% растворе натрия хлористого до разведения 10⁻⁵, выполняя

Таблица 1. Данные посева контрольных, не обработанных гелем, суспензий *M. tuberculosis* через 14 сут инкубации при температуре (37 ± 1)°C

Штаммы <i>M. tuberculosis</i>	Количество колоний <i>M. tuberculosis</i> из разведений									
	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		10 ⁻⁵	
	Л-Й	Мдбр	Л-Й	Мдбр	Л-Й	Мдбр	Л-Й	Мдбр	Л-Й	Мдбр
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	++++	++++	+++	+++	+++	+++	70 ± 2	62 ± 6	7 ± 1	8 ± 1
<i>M. tuberculosis</i> PS-09	++++	++++	+++	+++	+++	+++	65 ± 5	66 ± 6	7 ± 1	7 ± 2
<i>M. tuberculosis</i> mR-01	++++	++++	+++	+++	+++	+++	74 ± 4	63 ± 2	8 ± 1	6 ± 1

Обозначения: «++++» интенсивность роста культуры (более 500 колоний); «+++» рост более 100 колоний; ЛЙ – среда Левенштейна–Йенсена; Мдбр – агаризованная среда Миддлбрука 7Н10 с 10% ростовой добавкой OADC.

десятикратные серийные разведения. По 0,2 мл микробной суспензии из каждого разведения (10⁻¹, 10⁻², 10⁻³, 10⁻⁴, 10⁻⁵) высевали на две питательные среды – Левенштейна–Йенсена и Миддлбрука 7Н10. Посевы инкубировали при температуре (37 ± 1)°C в течение 42 сут. Учет результатов проводили каждую неделю визуально. В качестве контроля культур использовали не обработанные гелями образцы штаммов *M. tuberculosis*.

Все исследования проводили как минимум в трех повторностях.

Результаты и обсуждение

При посеве контрольных (необработанных) суспензий микобактерий рост всех трех штаммов *M. tuberculosis* H37Rv, *M. tuberculosis* PS-09 и *M. tuberculosis* mR-01 был обнаружен уже через 14 сут инкубации. Из разведений 10⁻¹–10⁻³ штаммы вырастали в виде газона, а из разведений 10⁻⁴–10⁻⁵ – в виде отдельных колоний. На среде Левенштейна–Йенсена колонии *M. tuberculosis* выглядели сухими, морщинистыми, желтоватого или слегка кремового цвета, напоминающими манную крупу или цветную капусту. На среде Миддлбрука 7Н10 колонии *M. tuberculosis* выглядели сухими, морщинистыми, плоскими, сероватого цвета с неровным краем. Результаты посевов представлены в таблице 1.

На питательных средах, засеянных обработанными суспензиями всех трех штаммов микобактерий, через 14 сут инкубации рост отсутствовал. Только через 3 нед инкубации посевов появился скудный рост на обеих средах из разведения 10⁻¹ суспензий всех трех штаммов, обработанных в течение 24 ч средством №1 в концентрации 50 мкл/мл. В остальных вариантах рост отсутствовал. При этом следует отметить, что морфология выросших колоний осталась типичной, но колонии были мельче, чем у контрольных (необработанных) штаммов.

Через 28 сут инкубации появился рост всех трех штаммов из разведений 10⁻¹ и 10⁻², обработанных средством №1 в концентрации 50 мкл/мл в течение 24 ч и 48 ч. После обработки данным гелем в концентрации 100 мкл/мл штаммы микобактерий туберкулеза вели себя несколько иначе: после 24-часового воздействия штаммы *M. tuberculosis* H37Rv, *M. tuberculosis* PS-09 вырастали из разведений 10⁻¹ и 10⁻², а штамм *M. tuberculosis* mR-01 – только из разведения 10⁻¹. После 48-часовой обработки рост всех штаммов отсутствовал. Результаты обработки штаммов микобактерий туберкулеза гелем «Монарис» приведены в таблице 2.

Обработка штаммов микобактерий туберкулеза средством №2 продемонстрировала следующие результа-

ты (табл. 3). Воздействие гелем в концентрации 100 мкл/мл в течение 48 ч давало полный туберкулоцидный эффект в отношении всех трех исследованных штаммов. Обработка гелем меньшей концентрации (50 мкл/мл) в течение 48 ч давала аналогичный эффект. А более короткое воздействие в течение 24 ч средством №2 в той же концентрации не полностью убивает микобактерии: рост всех трех штаммов наблюдался из разведения 10⁻¹ в виде единичных колоний.

Через 42 сут инкубирования образцов количественная картина роста микобактерий не изменилась, т.е. новые колонии не появились, а уже имеющиеся только увеличились в размерах. Следует отметить, что количественный рост всех трех штаммов на обеих средах был аналогичным. Поэтому дальнейшие расчеты туберкулоцидной активности проводили по результатам, полученным на среде Левенштейна–Йенсена.

Таблица 2. Рост штаммов *M. tuberculosis*, обработанных препаратами №1 и №2, через 28 суток культивирования при температуре 37°C

Штамм <i>M. tuberculosis</i>	Обработка средством №1 50 мкл/мл		Обработка средством №2 100 мкл/мл	
	24 ч	48 ч	24 ч	48 ч
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv (разведение 10 ⁻¹)	62/70*	очень мелкие	48/52	–**
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv (разведение 10 ⁻²)	5/7	4/3	5/4	–
<i>M. tuberculosis</i> PS-09 (разведение 10 ⁻¹)	60/64	41/39	29, 34	–
<i>M. tuberculosis</i> PS-09 (разведение 10 ⁻²)	5/6	2/4	2/4	–
<i>M. tuberculosis</i> mR-01 (разведение 10 ⁻¹)	55/58	28/35	15/21	–
<i>M. tuberculosis</i> mR-01 (разведение 10 ⁻²)	3/4	5/4	–	–

Обозначение: * – среднее количество колоний, выросших на среде Левенштейна–Йенсена/среднее количество колоний, выросших на среде Миддлбрук 7Н10; ** – полное подавление роста *M. tuberculosis*.

Таблица 3. Рост штаммов микобактерий туберкулеза после обработки средством №2 через 28 суток культивирования

Штаммы <i>M. tuberculosis</i>	Обработка средством №2 50 мкл/мл		Обработка средством №2 100 мкл/мл	
	24 ч	48 ч	24 ч	48 ч
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv из разведения 10 ⁻¹	5/7	–	–	–
<i>M. tuberculosis</i> PS-09 из разведения 10 ⁻¹	5/4	–	–	–
<i>M. tuberculosis</i> mR-01 из разведения 10 ⁻¹	2/4	–	–	–

Обозначение: * – среднее количество колоний, выросших на среде Левенштейна–Йенсена/среднее количество колоний, выросших на среде Миддлбрук 7Н10; ** – полное подавление роста *M. tuberculosis*.

Таблица 4. Результаты воздействия гелей для очистки воздуха на микобактерии туберкулеза

Штаммы <i>M. tuberculosis</i>	исходная	Концентрация микробной суспензии, КОЕ/мл							
		после обработки №1 50 мкл/мл		после обработки №1 100 мкл/мл		после обработки №2 50 мкл/мл		после обработки №2 100 мкл/мл	
		24 ч	48 ч	24 ч	48 ч	24 ч	48 ч	24 ч	48 ч
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv	$3,5 \times 10^6$	$3,1 \times 10^3$	$1,9 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	–	$2,5 \times 10^2$	–	–	–
<i>M. tuberculosis</i> PS-09	$3,5 \times 10^6$	$3,0 \times 10^3$	$2,0 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	–	$2,5 \times 10^2$	–	–	–
<i>M. tuberculosis</i> mR-01	$4,0 \times 10^6$	$2,8 \times 10^3$	$1,4 \times 10^3$	$0,8 \times 10^3$	–	$1,0 \times 10^2$	–	–	–

В таблице 4 представлены обобщенные результаты воздействия средств на три штамма микобактерий туберкулеза.

Из таблицы 4 более наглядно видно, что гель №1 в концентрации 50 мкл/мл оказывает туберкулостатическое действие на исследованные штаммы микобактерий туберкулеза, снижая их концентрацию на три порядка, т.е. на $3 \log_{10}$. Увеличение времени воздействия гелем с 24 ч до 48 ч приводит к уменьшению концентрации исследованных штаммов примерно в 2 раза. Воздействие в двойной концентрации (100 мкл/мл) в большей степени зависело от времени: 24-часовая обработка давала результаты, аналогичные вышеописанным, а 48-часовая обработка приводила к полному уничтожению микобактерий.

При обработке в течение 24 ч средством №2 в концентрации 50 мкл/мл количество жизнеспособных клеток микобактерий снижалось уже на четыре порядка, т.е. на $4 \log_{10}$. При увеличении времени воздействия до 48 ч данной концентрации и при увеличении концентрации до 100 мкл/мл достигается туберкулоцидный эффект в отношении исследованных штаммов микобактерий туберкулеза.

Заключение

Исследуемые препараты обладают антимикробной активностью в отношении чувствительных и резистентных штаммов микобактерий туберкулеза.

Препарат, содержащий эфирное масло бархатцев, обладает более выраженным туберкулоцидным эффектом в отношении чувствительного к лекарственным препаратам штамма *M. tuberculosis* H37Rv и двух штаммов *M. tuberculosis*, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, что достигается его 48-часовым воздействием в концентрации 50 мкл/мл и 24-часовым воздействием в концентрации 100 мкл/мл. Средство, содержащее эфирное масло иссопа лекарственного, подобный эффект оказывает при более длительном воздействии (48 ч) в более высокой концентрации (100 мкл/мл).

Средства на основе фитоэкстрактов не способны, подобно химическим дезинфицирующим средствам, вызывать гибель микроорганизмов в течение нескольких минут, их воздействие исчисляется часами и даже сутками. Но отсутствие побочных эффектов на здоровье человека и животных позволяет проводить постоянную обработку такими препаратами в присутствии людей и блокировать размножение микобактерий.

Полученные данные позволяют предположить возможность разработки комплексного препарата с фитоэкстрактами и химическими агентами в одной формуле или создания схем последовательного применения дезинфектантов и средств бытовой химии на основе изучаемых фитокомпозиций.

Литература

1. World Health Organization. Press release: "WHO Global Task Force outlines measures to combat XDR-TB worldwide". – 2006.
2. World Health Organization. Global Tuberculosis Control Report 2011. – Geneva. Switzerland: WHO Press. – 2011. – 50 p. Available at: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html.
3. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 global report on surveillance and response WHO/HTM/TB/2010. Geneva. Switzerland: WHO Press. – 2010. – 58 p. Available at: www.who.int/tb.
4. Rubin J. Mycobacterial disinfection and control. Disinfection, sterilization, and preservation. Ed. S.S.Block, 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991, p. 191-203.
5. US Patent 5436008. Sanitizing compositions. Francis L. Richter, Duane J. Reinhardt. Issued on July 25, 1995. Estimated Expiration Date: August 5, 2013.
6. US Patent. Tuberculocidal disinfectant. S. Behrends, A. Dettmann, M. Mohr. Issued on April 23, 2002. Estimated Expiration Date: January 15, 2019.
7. Ивашов СВ, Михайлова ЕГ, Борзенкова ТХ, Вострокнутова ГН, Негрий НВ, Ступин АЮ, и др. Антимикробная активность средств на основе фитоэкстрактов сосны, монарды и бархатцев для обработки воздуха помещений лечебно-профилактического назначения. Растительные ресурсы. 2012; 48(1):127-138.
8. Potapov V, Chubatova O, Chubatova S, Bakhteeva I, Titareva G. Mix of Pfytoncides Enclosed in Liposomes Protects Mice against TB Infections. Poster # F1-1361 on the 51th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago, IL, USA, Septambr 17-20, 2011.

References

1. World Health Organization. Press release: "WHO Global Task Force outlines measures to combat XDR-TB worldwide". – 2006.
2. World Health Organization. Global Tuberculosis Control Report 2011. – Geneva. Switzerland: WHO Press. – 2011. – 50 p. Available at: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html.
3. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): 2010 global report on surveillance and response WHO/HTM/TB/2010. Geneva. Switzerland: WHO Press. – 2010. – 58 p. Available at: www.who.int/tb.
4. Rubin J. Mycobacterial disinfection and control. Disinfection, sterilization, and preservation. Ed. S.S.Block, 4 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991, p. 191-203.
5. US Patent 5436008. Sanitizing compositions. Francis L. Richter, Duane J. Reinhardt. Issued on July 25, 1995. Estimated Expiration Date: August 5, 2013.
6. US Patent. Tuberculocidal disinfectant. S. Behrends, A. Dettmann, M. Mohr. Issued on April 23, 2002. Estimated Expiration Date: January 15, 2019.
7. Ivashov SV, Mikhailova EG, Borzenkova TKh, Vostroknutova GN, Negrii NV, Stupin AYU, et al. Estimation of antimicrobial activity of liposomal extracts of some plant species for room air treatment. Rastitelnye Resursy. 2012;48(1):127-138. (In Russian).
8. Potapov V, Chubatova O, Chubatova S, Bakhteeva I, Titareva G. Mix of Pfytoncides Enclosed in Liposomes Protects Mice against TB Infections. Poster # F1-1361 on the 51th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago, IL, USA, Septambr 17-20, 2011.

Информация о авторах:

Домотенко Любовь Викторовна, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории разработки питательных сред ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболensk, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0003
 E-mail: domotenko@obolensk.org

Акимова Наталья Сергеевна, инженер-микробиолог сектора разработки диагностических препаратов, научно-производственного отдела питательных сред ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболensk, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0003

Акимов Сергей Иванович, заведующий сектором маркетинга, научно-производственного отдела питательных сред ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
 Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболensk, ФБУН ГНЦ ПМБ
 Телефон: (4967) 36-0003

Чубатова Светлана Александровна, доктор биологических наук, главный технолог ООО «ЭРБИ»
 Адрес: 123308, Москва, ул. 4-я Магистральная, 11/2, оф. 213
 Телефон: (495) 532-0232
 E-mail: cler719@mail.ru

Information about authors:

Lubov V. Domotenko, PhD (Chem), Leading Researcher of the Laboratory of Culture Media of the laboratory of culture media development, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0003
 E-mail: domotenko@obolensk.org

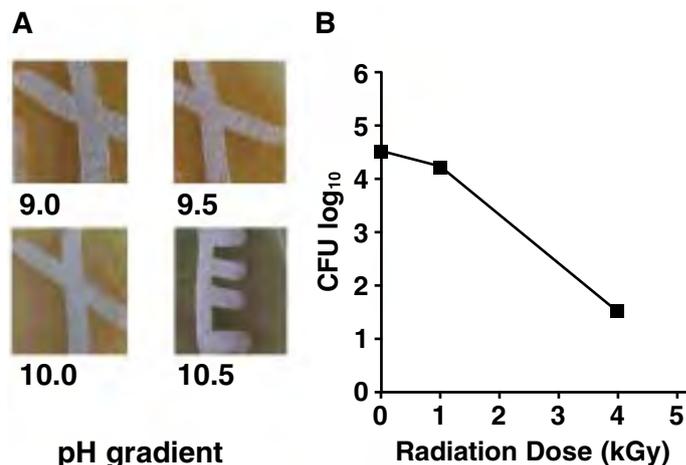
Natalya S. Akimova, microbiologist-engineer of the Diagnostic Media Development Sector, Nutrient Research and Production Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0003

Sergey I. Akimov, head of marketing, Sector, Nutrient Research and Production Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0003

Svetlana A. Chubatova, PhD, DSc (Biology), chief technologist, LLC «ERBI»
 Address: office 213, 4th Magistralnaya St., 11/2, Moscow, 123308, Russian Federation
 Phone: (495) 532-0232
 E-mail: cler719@mail.ru

НОВОСТИ НАУКИ**Новый алкалифильный *Streptomyces* ингибирует патогены группы ESKAPE**

Ученые активно ищут средства борьбы против мультирезистентных бактерий, порой совершенно в необычных местах. В частности, обнаружено новое этнофармакологическое лекарство в щелочно-радоновых почвах в районе Бохо, в Фермана-Скарпландс (Северная Ирландия). Это представитель рода *Streptomyces*, известного производителя антибиотиков, способный к росту в сильно щелочной среде (pH 10,5) и устойчивый к гамма-излучению до 4 кГр. Геномное секвенирование идентифицировало у него многие щелочные гены устойчивости (антипортерной/мультирезистентности), поэтому штамм получил название *Streptomyces sp. myrophorea* McG1 (от греческого миро (аромат) и форей (портер/носитель)). Испытания *in vitro* продемонстрировали способность штамма ингибировать рост многих штаммов возбудителей группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и виды из рода *Enterobacter*), наиболее значимыми из которых являются резистентные к карбапенему *Acinetobacter baumannii* (критический патоген в списке приоритетных бактерий, устойчивых к антибиотикам ВОЗ), устойчивый к ванкомицину *Enterococcus faecium* и устойчивый к метициллину *Staphylococcus aureus* (оба перечисляются в качестве высокоприоритетных патогенов). С помощью программного обеспечения anti-SMASH и RAST идентифицировано много вторичных кластеров генов устойчивости к метаболизму и токсичности (45 и 27 соответственно), а также многие гены устойчивости к антибиотикам, потенциально связанные с выработкой антибиотиков. Последующие тесты *in vitro* показывают, что штамм *Streptomyces sp. myrophorea* McG1 был устойчив к 28 из 36 клинических антибиотиков. Дальнейший анализ может выяснить другие ключевые компоненты, которые могли бы смягчить течение мультирезистентных внутрибольничных инфекций.



A Novel Alkaliphilic *Streptomyces* Inhibits ESKAPE Pathogens.
 Terra L, Dyson PJ, Hitchings MD, Thomas L, Abdelhameed A, Banat IM, et al.
 Front Microbiol. 2018 Oct 16;9:2458. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02458

Бактериально-вирусные ассоциации при дисбиозах вагинального биотопа

Е.В.Наумкина^{1,2}, Е.В.Матущенко¹, Е.В.Пахалкова²

¹ФГБОУ ВО «Омский государственный медицинский университет», Омск, Российская Федерация;

²БУЗОО «Городской клинический перинатальный центр», Омск, Российская Федерация

Бактериальные инфекции влагалища – наиболее распространенные заболевания, встречающиеся в гинекологической практике. Их частота в различных популяциях женщин варьирует от 30 до 80%. Среди инфекционных заболеваний наиболее часты дисбиозы (бактериальный вагиноз (БВ) и урогенитальный кандидоз), хламидиоз и вагиниты. Доля микст-инфекций в структуре данной патологии, по данным разных авторов, варьирует от 51,9 до 82% и выше. Помимо устойчивых ассоциаций возбудителей бактериальной природы, достаточно высока доля участия вирусов в этиологии данной группы инфекций, а также наличие вирусно-бактериальных ассоциаций. Проведенное исследование показало, что приблизительно в половине случаев дисбиотическим процессам влагалища сопутствует персистенция вирусов в клетках вагинального эпителия. В основном это цитомегаловирус изолированно или в ассоциации с герпесвирусами I и II типов. При этом персистирование вирусов в клетках слизистой оболочки приводит к нарушению целостности эпителиального слоя, открывая возможности для проявления патогенного потенциала условно-патогенных микроорганизмов, входящих в состав нормальной микрофлоры влагалища.

Ключевые слова: микроорганизмы, дисбиозы, вирусно-бактериальные ассоциации

Для цитирования: Наумкина Е.В., Матущенко Е.В., Пахалкова Е.В. Бактериально-вирусные ассоциации при дисбиозах вагинального биотопа. Бактериология. 2019; 4(3): 49–52. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-49-52

Bacterial viral associations in vaginal biotope dysbiosis

E.V.Naumkina^{1,2}, E.V.Matushchenko¹, E.V.Pakhalkova²

¹Omsk State Medical University, Omsk, Russian Federation;

²City Clinical Perinatal Center, Omsk, Russian Federation

Bacterial vaginal infections are the most common diseases in gynecological practice. Their frequency in various populations of women varies from 30 to 80%. Among them, dysbiosis (BV, urogenital candidiasis), chlamydia and vaginitis are most common. Mixed infections in this pathology according to different authors varies from 51.9 to 82% and higher. In addition to stable associations of bacterial pathogens, the share of viruses in the etiology of this group of infections is quite high, as well as the presence of virus-bacterial associations. The study showed that in about half of cases, the dysbiotic processes of the vagina are accompanied by the persistence of viruses in the cells of the vaginal epithelium. This is mainly a cytomegalovirus only or in association with herpes viruses I and II. In this case, the persistence of viruses in the cells of the mucous membrane leads to a violation of the integrity of the epithelial layer, opening up opportunities for the manifestation of the pathogenic potential of opportunistic microorganisms that make up the normal microflora of the vagina.

Key words: microorganisms, dysbiosis, bacterial viral associations

For citation: Naumkina E.V., Matushchenko E.V., Pakhalkova E.V. Bacterial viral associations in vaginal biotope dysbiosis. Bacteriology. 2019; 4(3): 49–52. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-49-52

Урогенитальные инфекции на современном этапе в большинстве случаев являются смешанными, что делает актуальным совершенствование диагностических подходов, а также изучение взаимного влияния участников микробных ассоциаций, определяющего особенности клинического течения этих заболеваний.

Доля микст-инфекций в структуре данной патологии, по данным разных авторов, варьирует от 51,9 [1] до 82% и выше [2–5]. Помимо отмечаемых различными исследователями устойчивых ассоциаций возбудителей бактериальной природы, встречаются сообщения о достаточно высокой доле участия вирусов в этиологии данной груп-

Для корреспонденции:

Наумкина Елена Витальевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Омского государственного медицинского университета, заведующая лабораторией клинической микробиологии Городского клинического перинатального центра

Адрес: 644007, Омск, ул. Герцена, 69

Телефон: (3812) 23-6075

E-mail: evn04@mail.ru

Статья поступила 17.08.2019 г., принята к печати 26.09.2019 г.

For correspondence:

Elena V. Naumkina, MD, PhD, DSc, professor of the department of microbiology, virology and immunology, Omsk State Medical University; head of the laboratory of clinical microbiology, City Clinical Perinatal Center

Address: 69 Gertsena str., Omsk, 644007, Russian Federation

Phone: (3812) 23-6075

E-mail: evn04@mail.ru

The article was received 17.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

пы инфекций, а также о наличии вирусно-бактериальных ассоциаций.

Так, отмечена более высокая частота встречаемости бактериального вагиноза у больных ВИЧ-инфекцией [6], бактериального вагиноза (БВ) и хламидиоза у женщин с папилломавирусной инфекцией гениталий [7], а также нарушения микробного пейзажа вагинальной микрофлоры с появлением условно-патогенных микроорганизмов у этой категории больных [8]. Ross S.A. и соавт. выявили достоверную ассоциативную связь между цитомегаловирусной инфекцией урогенитального тракта и БВ [9].

Хронические инфекционно-вирусные заболевания влагалища и БВ чаще всего бывают обусловлены подавлением активности местных факторов иммунитета, прежде всего из-за снижения синтеза секреторного иммуноглобулина А (IgA), основным функциональным свойством которого является защита слизистых оболочек от микробной агрессии. Результаты исследований последнего десятилетия свидетельствуют о том, что иммунодефицит является обязательным компонентом любой вирусной инфекции [1, 10].

Следует отметить, что инфекции герпесвирусной этиологии, передаваемые половым путем, занимают особое место в структуре общей заболеваемости. Их значимость обусловлена и тем, что эти болезни затрагивают органы и ткани, относящиеся к репродуктивной системе.

По современным оценкам, в России число больных, обращающихся с жалобами по поводу генитального герпеса (ГГ), составляет около 15% реальной частоты заболевания, а общее число больных, страдающих острыми и рецидивирующими формами ГГ, может составлять около 8 млн человек [11]. Особую эпидемиологическую угрозу представляет бессимптомный герпес у женщин, т.к. беременные становятся источником инфицирования плода, вызывая увеличение числа самопроизвольных абортов, преждевременных родов, рождения детей с патологией ЦНС. Длительная персистенция герпесвирусов в организме человека и специфический иммунодефицит, сформированный у больных рецидивирующим ГГ, способствуют присоединению других инфекций урогенитального тракта. При этом бактериальные и вирусные возбудители по-разному влияют на состояние иммунологической резистентности организма [12]. Так, если большинство условно-патогенных возбудителей способствует повышению напряженности противоинфекционного общего и местного иммунитета, то при вирусных заболеваниях отмечается мозаичная картина нарушений иммуногенеза из-за выраженной способности вирусов блокировать синтез защитных белков и функциональную активность отдельных видов иммунокомпетентных клеток, что снижает эффективность проводимого лечения [13].

Цель исследования – изучение места герпесвирусов в этиологии урогенитальных смешанных инфекций, вызванных условно-патогенными возбудителями, и роли вирусно-бактериальных ассоциаций в этой патологии.

Материалы и методы

В образцах вагинального отделяемого от 108 больных методом полимеразной цепной реакции проводилось обнаружение цитомегаловируса (CMV), а также вирусов герпеса I и II типов (HSV I и HSV II).

Параллельно проводилось изучение состояния вагинального микробиоценоза. Комплексное обследование включало микроскопию мазка по общепринятой методике и количественный посев на расширенный набор питательных сред, предусматривающий выделение широкого круга аэробных, факультативно-анаэробных, микроаэрофильных, облигатно-анаэробных микроорганизмов, а также микоплазм и уреоплазм. Посев биоматериала проводили на набор питательных сред, соответствующих предполагаемому спектру возбудителей, инкубировали аэробно, в условиях повышенного содержания CO₂, а также при необходимости анаэробно (GazPac); идентификацию проводили с использованием оптимального в каждом случае набора доступных методов (классические биохимические тесты, хромогенные среды, иммуносерологические методы, автоматизированная идентификация с использованием Phoenix-100, масс-спектрометрия Vitec-MS Maldi-Tof).

Результаты и обсуждение

Возбудители герпесвирусных инфекций были обнаружены более чем у половины обследованных больных (54,6%). Этиологическая структура герпесвирусных инфекций урогенитального тракта представлена на рисунке 1.

Наибольший удельный вес в структуре вирусных инфекций занимает цитомегаловирусная инфекция изолированно (45,7%) или в сочетании с герпесвирусами I и II типов (22% CMV + HSV I + HSV II; 3,4% CMV + HSV II и 1,7% CMV + HSV I). В 6,8% и 3,4% выявлялись HSV I и HSV II соответственно, и у 20,3% больных герпесвирусы обоих типов были выявлены одновременно.

Состояние вагинального микробиоценоза при вирусных инфекциях продемонстрировано на рисунке 2.

Цитомегаловирус достоверно чаще выявлялся изолированно на фоне нормоценоза вагинальной микрофлоры, а также в ассоциации с дрожжеподобными грибами рода *Candida*. В то же время герпесвирусы чаще ассоциировались с микоуреаплазмами и обнаруживались при БВ. Сочетание с неспецифическими возбудителями регистрировалось достаточно часто для всех вирусов, и показатели были приблизительно на одном уровне.

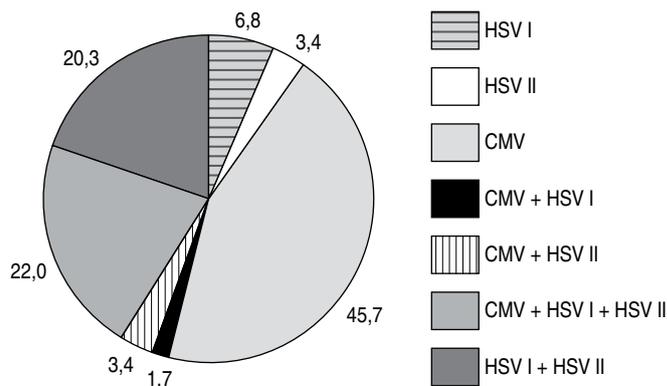


Рис. 1. Этиологическая структура герпесвирусных инфекций урогенитального тракта.

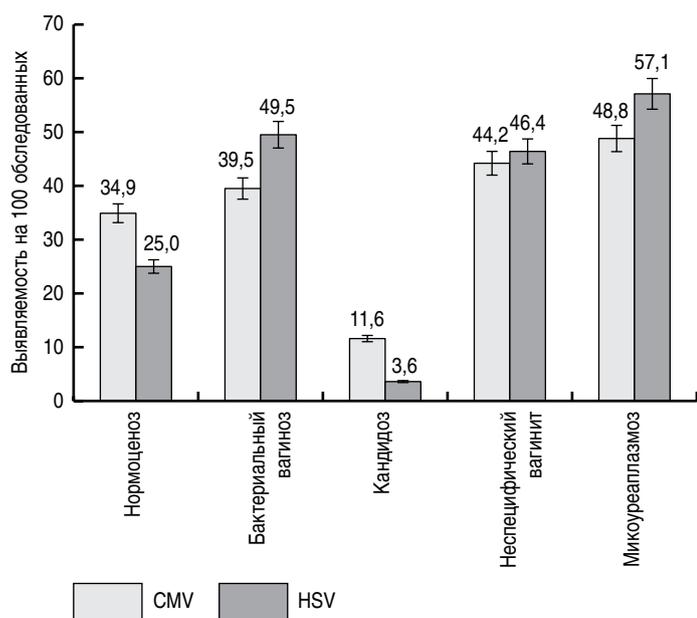


Рис. 2. Характеристика вагинального микробиоценоза на фоне вирусной инфекции.

Определенный интерес вызывает вопрос о влиянии присоединения вирусной инфекции на интенсивность воспалительного процесса и тяжесть клинических проявлений заболевания при дисбиотических процессах.

Выраженность местной воспалительной реакции в зависимости от этиологии вирусной инфекции и состава ассоциаций представлена на рисунке 3.

Горизонтальная линия на рисунке показывает среднее число лейкоцитов в вагинальном мазке у тех больных, у которых вирусы не были обнаружены. Этот показатель составил $9,57 \pm 3,71$. В случаях присоединения герпесвирусной инфекции число лейкоцитов было ниже – $6,5 \pm 1,7$. Вероятно, данный факт отчасти можно объяснить сочетанием герпесвирусов в высоком проценте случаев с БВ, для которого характерен низкий лейкоцитоз ввиду ингибирующего влияния продуктов метаболизма гарднерелл и облигатных анаэробов на лейкоцитарную активность. Зато в случаях выявления цитомегаловируса, в особенности в составе ассоциаций из 2 и более вирусов, или выявления вирусно-бактериальных ассоциаций выраженность местной воспалительной реакции существенно увеличивалась ($11,53 \pm 3,04$; $14,4 \pm 3,8$ и $12,5 \pm 2,5$ соответственно).

Заключение

Таким образом, проведенное исследование выявило, что возбудители вирусной природы занимают существенное место в структуре урогенитальных инфекций женских половых путей.

Приблизительно в половине случаев дисбиотическим процессам влагалища сопутствует персистенция вирусов в клетках вагинального эпителия. В основном это цитомегаловирус изолированно или в ассоциации с герпесвирусами I и II типов. При этом персистирование вирусов в клетках слизистой оболочки приводит к нарушению целостности эпителиального слоя, открывая возможности для проявле-

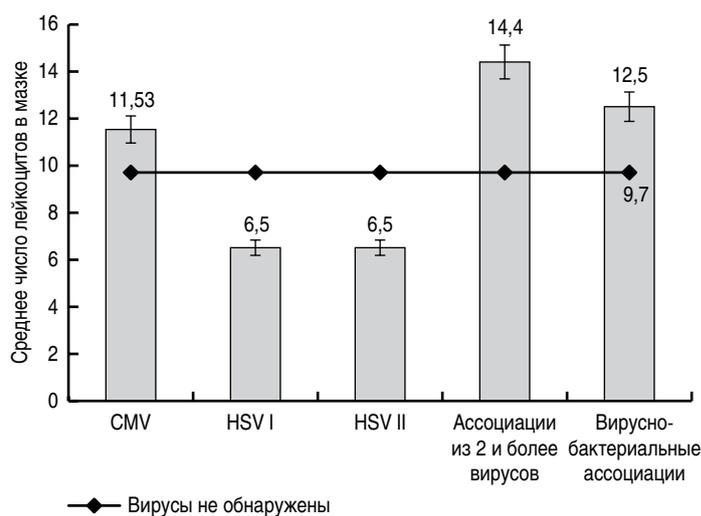


Рис. 3. Выраженность местной лейкоцитарной реакции в зависимости от этиологии вирусной инфекции.

ния патогенного потенциала условно-патогенных микроорганизмов, входящих в состав нормальной микрофлоры влагалища.

Существенное увеличение выраженности местной воспалительной реакции зарегистрировано в случаях наличия цитомегаловирусной инфекции, и в особенности при выявлении нескольких вирусов одновременно или вирусно-бактериальных ассоциаций. Полученные данные свидетельствуют об объективной необходимости комплексного подхода к диагностике дисбиотических процессов половых путей с использованием доступных методов, включая как классические микроскопические и культуральные, так и современные молекулярно-генетические методы диагностики, направленные на выявление широкого круга облигатных и условных патогенов бактериальной и вирусной природы.

Литература

1. Минкина ГН, Манухин ИБ, Франк ГА. Предрак шейки матки. М.: Аэрограф-медиа; 2001, 112 с.
2. Чеботкевич ВН, и др. Значение молекулярных и микробиологических методов диагностики для обоснования этиопатогенетической терапии урогенитального микоплазмоза. Генодиагностика инфекционных заболеваний. Тезисы докладов V Всероссийской научно-практической конференции. М., 2004, с. 139-141.
3. Рюмин ДВ, Радзинский ВЕ. Лабораторно-диагностический скрининг при обследовании больных с инфекциями, передаваемыми половым путем. Клиническая лабораторная диагностика. 2000;10:13.
4. Мосин ЛМ, и др. Особенности микробного пейзажа и определение терапевтических подходов на фоне урогенитальной хламидийной инфекции у женщин. Клиническая лабораторная диагностика. 2000;10:44.
5. Наумкина ЕВ. Вирусы и вирусно-бактериальные ассоциации в этиологии инфекций влагалища. Пермский медицинский журнал. 2008;XXV(3):86-8.
6. Jamieson DJ, Duerr A, Klein RS, Paramsothy P, Brown W, Cu-Uvin S, Rompalo A, Sobel J. Longitudinal analysis of bacterial vaginosis: findings from the HIV epidemiology research study. Obstet Gynecol. 2001 Oct;98(4):656-63. DOI: 10.1016/s0029-7844(01)01525-3
7. da Silva CS, Adad SJ, Hazarabedian de Souza MA, Macêdo Barcelos AC, Sarreta Terra AP, Murta EF. Increased frequency of bacterial vaginosis and chlamydia

- trachomatis in pregnant women with human papillomavirus infection. *Gynecol Obstet Invest.* 2004;58(4):189-93. DOI: 10.1159/000079822
8. Евстигнеева НП, и др. Онкогенные типы ВПЧ у женщин с заболеваниями шейки матки. Генодиагностика инфекционных заболеваний. Тезисы докладов IV Всероссийской научно-практической конференции. М., 2002, с. 24-25.
 9. Ross SA, Novak Z, Ashrith G, Rivera LB, Britt WJ, Hedges S, Schwebke JR, Boppana AS. Association between genital tract cytomegalovirus infection and bacterial vaginosis. *J Infect Dis.* 2005 Nov 15;192(10):1727-30. DOI: 10.1086/497150
 10. Прилепская ВН, Рудакова ЕБ, Кононов АВ. Эктопии и эрозии шейки матки. М.: Медпресс-информ; 2002, 175 с.
 11. Шульженко АЕ, Зуйкова ИН. Галавит в комплексной терапии больных с хронической рецидивирующей герпесвирусной инфекцией. *Новые лекарства.* 2003;3:54-7.
 12. Семенова ТВ, Губанова ЕИ, Яцуха МВ. Эпидемиологические аспекты генитального герпеса. Анализ заболеваемости генитальным герпесом в Российской Федерации и Москве за период с 1994 по 1998 г. ИППП. 2000;6:26-30.
 13. Сидорова ИС, Белопольская ХА. Современные способы лечения инфекции нижнего отдела половых путей у женщин. *Вестник РАМН.* 2012;67(4):4-10.
 7. da Silva CS, Adad SJ, Hazarabedian de Souza MA, Macêdo Barcelos AC, Sarreta Terra AP, Murta EF. Increased frequency of bacterial vaginosis and chlamydia trachomatis in pregnant women with human papillomavirus infection. *Gynecol Obstet Invest.* 2004;58(4):189-93. DOI: 10.1159/000079822
 8. Evstigneeva NP, et al. Oncogenic types of HPV in women with cervical diseases. Genodiagnostics of infectious diseases. Proceedings of the IV all-Russian scientific and practical conference. Moscow, 2002, pp. 24-25. (In Russian).
 9. Ross SA, Novak Z, Ashrith G, Rivera LB, Britt WJ, Hedges S, Schwebke JR, Boppana AS. Association between genital tract cytomegalovirus infection and bacterial vaginosis. *J Infect Dis.* 2005 Nov 15;192(10):1727-30. DOI: 10.1086/497150
 10. Prilepskaya VN, Rudakova EB, Kononov AV. Ektopii i erozii sheiki matki [Ectopia and cervical erosion]. Moscow: "Medpress-inform" Publ.; 2002, 175 p. (In Russian).
 11. Shul'zhenko AE, Zuikova IN. Galavit v kompleksnoi terapii bol'nykh s khronicheskoi retsidiviruyushchei herpesvirusnoi infektsiei. *Novye lekarstva.* 2003;3:54-7. (In Russian).
 12. Semenova TV, Gubanova EI, Yatsukha MV. Epidemiologicheskie aspekty genital'nogo gerpesa. Analiz zaboлеваemosti genital'nym gerpesom v Rossiiskoi Federatsii i Moskve za period s 1994 po 1998 g. IPPP. 2000;6:26-30. (In Russian).
 13. Sidorova IS, Belopolskaya KhA. Modern ways of treatment of the infection the bottom department of sexual ways of women. *Vestnik Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk (Annals of the Russian academy of medical sciences).* 2012;67(4):4-10. (In Russian).

References

Информация об авторах:

Матущенко Елена Валериевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Омского государственного медицинского университета
 Адрес: 644050, Омск, пр. Мира 9
 Телефон: (3812) 65-0488
 E-mail: omlen@ya.ru

Пахалкова Елена Владимировна, кандидат медицинских наук, заведующая клинико-диагностической лабораторией Городского клинического перинатального центра
 Адрес: 644007, Омск, ул. Герцена, 69
 Телефон: (3812) 23-6075

Information about authors:

Elena V. Matushchenko, MD, PhD, associate professor of the department of microbiology, virology and immunology, Omsk State Medical University
 Address: 9 Mira Ave., Omsk, 644050, Russian Federation
 Phone: (3812) 65-0488
 E-mail: omlen@ya.ru

Elena V. Pakhalkova, MD, PhD, head of the clinical diagnostic laboratory, City Clinical Perinatal Center
 Address: 69 Gertsena str., Omsk, 644007, Russian Federation
 Phone: (3812) 23-6075

Архивные данные о манифестациях сибирской язвы на территории Российской империи и их современное значение

Д.В.Николаенко¹, Б.Э.Фидлер²

¹Журнал «Энвайронментальная эпидемиология», Киев, Украина;

²Независимый аналитик, Флорида, США

В XIX веке борьба с инфекционными заболеваниями людей и домашнего скота была не всегда успешной, но система мониторинга за заразными болезнями была налажена на высоком уровне. В наследство от прошлого осталось беспрецедентно большое количество архивной информации. В статье рассмотрены случаи манифестации сибирской язвы на территории Российской империи. Определены направления работы с массивом архивной информации с помощью современной методологии.

Ключевые слова: сибирская язва, Российская империя, перемены климата, ГИС-обработка данных, инфекционная экология, палеоэпидемиология

Для цитирования: Николаенко Д.В., Фидлер Б.Э. Архивные данные о манифестациях сибирской язвы на территории Российской империи и их современное значение. Бактериология. 2019; 4(3): 53–61. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-53-61

Archival data on the manifestations of anthrax in the Russian Empire and their modern significance

D.V.Nikolaenko¹, B.A.Fiedler²

¹Journal «Environmental Epidemiology»;

²Independent Analyst, Florida, USA

In the XIX century, the fight against infectious diseases of people and livestock was not always successful, but the monitoring system for infectious diseases was established at a high level. An unprecedented large amount of archival information has remained from the past. The article discusses cases of manifestation of anthrax in Russian Empire. The directions of work with an array of archival information using modern methodology are determined.

Key words: anthrax, Russian empire, climate change, GIS data processing, infectious ecology, paleoepidemiology

For citation: Nikolaenko D.V., Fiedler B.A. Archival data on the manifestations of anthrax in the Russian Empire and their modern significance. Bacteriology. 2019; 4(3): 53–61. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-53-61

Открытие невероятно большого и качественного массива информации по проявлениям сибирской язвы на территории Российской империи стало результатом рутинного международного проекта по сибирской язве и туляремии. «База Черкасского» по скотомогильникам [1], которая досталась в наследие от советской эпидемиологии, стала обрабатываться в строгом соответствии с территориями новых постсоветских государств. Обработка данных стала носить международный характер. Сочетание американских деловитости и финансирования исследований с постсоветским сообществом эпидемиологов и ветеринаров легло в основу серии научных проектов [2–6], в том числе и с участи-

ем Украины [7, 8]. Основная задача исследования состояла в ГИС-обработке архивных данных по сибирской язве. Все скотомогильники Украины нужно было геокодировать и сделать цифровую карту проявления сибирской язвы на ее территории. Карта планировалась как основание пространственно-временного анализа проявления данного инфекционного заболевания. В «нагрузку» к сибирской язве добавили туляремию.

Вскоре выявились обстоятельства, препятствующие реализации этого амбициозного проекта. Оказалось, что данные «базы Черкасского» охватывают период с конца 1920-х годов и до настоящего времени, а треть из них не позволяет

Для корреспонденции:

Николаенко Дмитрий Васильевич, доктор географических наук, главный редактор журнала «Энвайронментальная эпидемиология»

Адрес: 03113, Киев, ул. Проспект Победы, 67

E-mail: profdmitrynikolaenko@gmail.com

Статья поступила 17.08.2019 г., принята 26.09.2019 г.

For correspondence:

Dmitry V. Nikolaenko, PhD, DSc (Geography), Professor, Editor-in-Chief of Journal «Environmental Epidemiology»

Address: 67 Pobedy ave., Kiev, 03113, Ukraine.

Email: profdmitrynikolaenko@gmail.com

The article was received 17.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

провести корректную пространственную локализацию. Никакая ГИС-программа и никакие усилия по обработке такой базы не могли дать корректного представления о пространственно-временных проявлениях сибирской язвы.

В связи с этим были начаты поиски других данных по сибирской язве, итогом которых стало открытие и систематическое описание массива данных как по сибирской язве, так и многим иным инфекционным заболеваниям времен Российской империи. Обработка этого массива данных, начатая Д.В.Николаенко, ведется с 2010 г. и до настоящего времени [9–14]. С 2019 г. к работе подключилась Б.Э.Фидлер [15, 16].

В данной статье описаны некоторые предварительные результаты, связанные с исследованием массива «имперских» данных по манифестации сибирской язвы на территории Российской империи. Есть возможность выйти на корректное и систематическое ГИС-описание проявления сибирской язвы на громадной территории. Это не только палеоэпидемиология, хотя и этого было бы более чем достаточно для выполнения работы. Задача важна для фундаментального понимания как самого сибиреязвенного процесса, так и влияния перемен в экологии *B. anthracis* на проявление микроорганизмом его патогенных свойств. Задача актуальна в связи с очевидными переменами климата и потенциальными новыми проявлениями сибирской язвы. Они могут стать экологическим последствием этого глобального процесса.

Объектом исследования являются данные о сибирской язве за исторически длительный промежуток времени, теория и методология их научной обработки.

Материалы и методы

Для проведения исследования использовали архивный и библиотечный поиск информации по манифестации инфекционных заболеваний на территории Российской империи за предельно длительный за период 1800–1917 гг. Работу вели в различных странах и на протяжении примерно пяти лет. Для реконструкции палеоэпидемиологии сибир-

ской язвы использовали типологический и качественный анализ массива источников, статистический анализ данных. оценку возможности их эффективного использования. Сделаны выборочные обработки сибиреязвенных данных на основании ГИС (ArcGIS 10.2), что дает возможность выйти на систематический анализ сибиреязвенного процесса и связать его проявления с многочисленными факторами и условиями. Выявлены методические проблемы по подготовке массива атрибутивной информации, связанной с почвами и массой остального.

Результаты и обсуждение

Уже на первых этапах исследования обнаружилось, что со второй половины XVIII в. и до начала XX в. заболеваемость сибирской язвой территории Российской империи носило откровенно угрожающий характер. Экономические потери были громадными. Сибирская язва была явлением повседневным и связанным с очень многими регионами империи. Вполне систематические регистрации инфекционных событий начались с 1860-х годов. Унифицированные и строго научные регистрации по сибирской язве начали с начала 1880-х годов. Имперская эпидемиология и ветеринария развивались по мере ухудшения инфекционной ситуации в государстве.

Не станем приводить данные по Российской империи в целом. Это громадная территория, и география сибирской язвы была очень избирательной. Приведем лишь данные по Петербургской губернии, опубликованные Н.Ф.Колесниковым [17]. Они дают представление относительно инфекционной угрозы того времени. Важно учитывать, что количество скотомогильников было аналогичным (табл. 1).

География проявления сибирской язвы регистрировалась очень точно. Доминировала школа «локалистов». Сбор первоначальной информации на протяжении десятков лет проводили эксперты Министерства внутренних дел по волостям. За общими цифрами годовых отчетов по губерниям и империи в целом всегда стояли корректные цифры по населенным пунктам, волостям и уездам.

Вероятно, наиболее детальная информация была собрана по Новоладожскому уезду Петербургской губернии, где после начала строительства Новоладожского канала была отмечена необычайная активность сибиреязвенного процесса. До этого ситуация по сибирской язве в этой местности ничем не отличалась от остальных – происходили спорадические случаи заболевания.

Приведем пример из публикации 1883 года А.Левицкого, ветеринара Новоладожского уезда, систематически собиравшего информацию именно по сибирской язве (рис. 1).

В настоящее время отдельные типовые работы из всего пула «имперских» данных, который охватывает сотни тысяч сохранившихся страниц публикуются в серии «Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи». На данный момент издано 14 томов [19–33].

Подготовлены к печати два тома исследований В.Ф.Нагорского [34, 35]. Это чрезвычайно заметная фигура в имперской эпидемиологии, успехи которой во многом связаны с активностью этого замечательного человека и удивительного ученого.

Таблица 1. Данные по манифестации сибирской язвы в Петербургской губернии за 1870–1889 гг. [17].

Год	Пало голов домашнего скота
1870	412
1871	868
1872	748
1873	303
1874	180
1875	79
1876	118
1877	76
1878	70
1879	156
1880	680
1881	2195
1882	234
1883	64
1884	3881
1885	2281
1886	762
1887	100
1888	69
1889	253
Всего 13529	

Также подготовлено многотомное издание имперских публикаций по сибирской язве на Новоладожском канале, охватывающее примерно 9000 тысяч страниц различных публикаций и материалов. К сожалению, поиск информации носил ограниченный характер из-за нехватки ресурсов на ее обработку. По сибирской язве Новоладожского канала в журнале «Энвайронментальная эпидемиология» будет опубликовано не менее 5 томов. Это в высшей степени знаковый случай проявления сибирской язвы. Работа по переизданиям идет очень медленно вследствие финансовых проблем и ограниченного количества экспертов.

Эксперты по сибирской язве в Российской империи не ограничивались только регистрацией статистики заболеваемости. Велась обширная аналитическая работа. Шли обширные научные дискуссии. Высказывались гипотезы.

Примером могут быть труды В.Ф.Нагорского. В лице одного человека объединились практический ветеринар, замечательный ученый теоретик и очень успешный организатор ветеринарной службы на уровне всей Российской империи. Обработав громадный массив данных по проявлениям сибирской язвы в Российской империи, он сформулировал ряд важных теоретических выводов. Есть явная корреляция температурных показателей и манифестации сибирской язвы. Сибирская язва времен Российской империи была заболеванием преимущественно летним. В объяснении проявления патогенных свойств *B. anthracis* В.Ф.Нагорский использовал многофакторный подход.

Детальный анализ методологии В.Ф.Нагорского сделан в двухтомнике «Теоретическая эпидемиология сибирской язвы в Российской империи» [34, 35]. Данные В.Ф.Нагорского нами были проверены. Мы повторили расчеты данного автора. Несмотря на некоторые технические ошибки, в целом подход может быть признан исключительно продуктивным и интересным. Сделана уникальная попытка теоретического осмысления манифестации сибиреязвенного процесса в естественных условиях.

Характерным для подхода В.Ф.Нагорского является случай обработки данных по Московской губернии (табл. 2). В графическом виде теоретический вывод В.Ф.Нагорского представлен на рисунке 2. У В.Ф.Нагорского есть четкое понимание и географической специфики проявления сибирской язвы. Выявлены и корректно описаны различные пространственно-временные версии (модели). Приведенный пример по Московской губернии – только один из многих типовых географических случаев. Если следовать логике В.Ф.Нагорского, по территории Российской империи можно выделить 5–6 существенно различных пространственно-временных типов проявления сибиреязвенного процесса.

Данные В.Ф.Нагорского могли бы лечь в основу ГИС под названием «Сибирская язва в Российской империи: пространственно-временной анализ». Однако в те времена не было ГИС, а была традиционная картография. Коллеги работали с топографическими картами. Стандарт их создания мало изменился до сих пор. Он сформировался именно в XIX веке. Картографическая обработка массива инфекционных данных выполнялась на уровне своего времени. Вероятно, наиболее интересным является пример карты

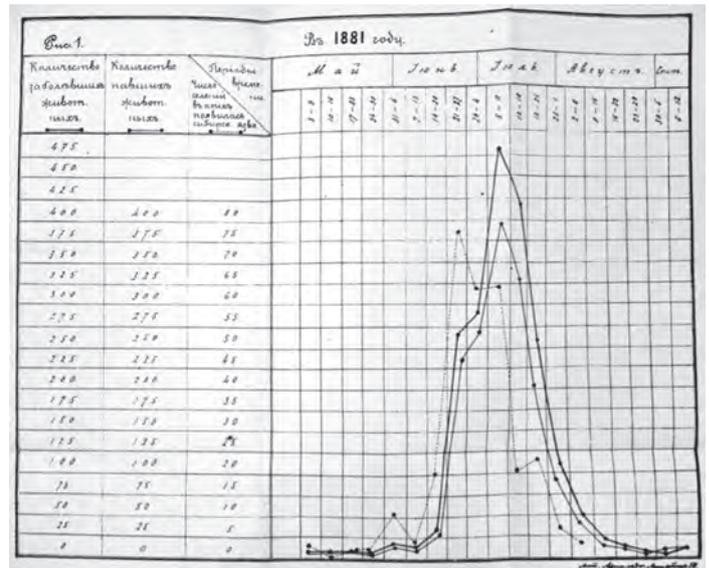


Рис. 1. Пример регистрации проявлений сибирской язвы в Российской империи по Новоладожскому уезду за 1881 г. [18].

Таблица 2. Обобщенные данные по манифестации сибирской язвы в Московской губернии за 1891–1898 гг. [36].

Сезоны года	Сумма случаев	Относительная частота (%)	Средние показатели		
			температура воздуха	облачность	осадки
Зима	5	0,2	10,1	7,7	103
Весна	272	11,1	7,2	5,9	113
Лето	2037	82,8	17,7	5,6	191
Осень	145	5,9	2,2	7,9	154
	2459	100			

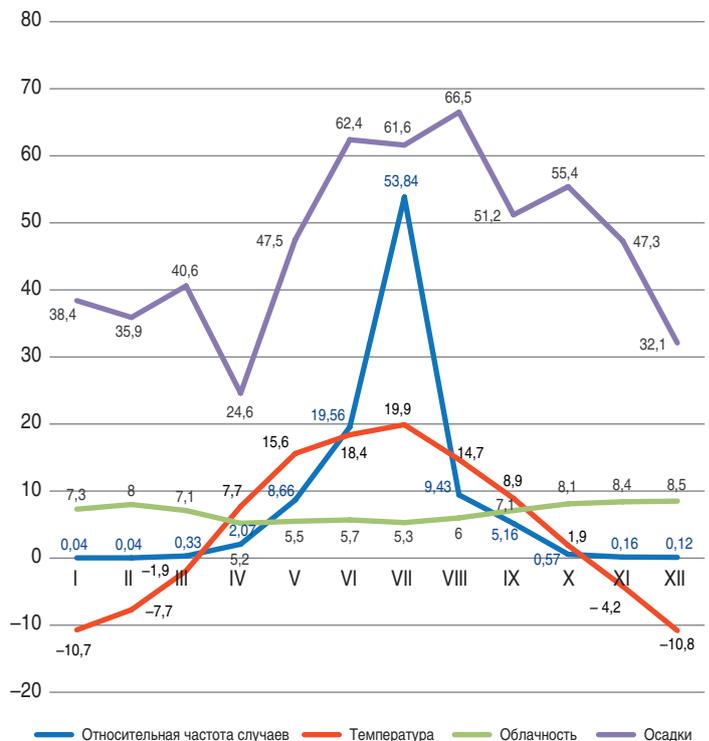


Рис. 2. Многофакторный анализ проявления сибиреязвенного процесса в естественных условиях (на примере данных по Московской губернии за 1891–1898 гг.) [36].

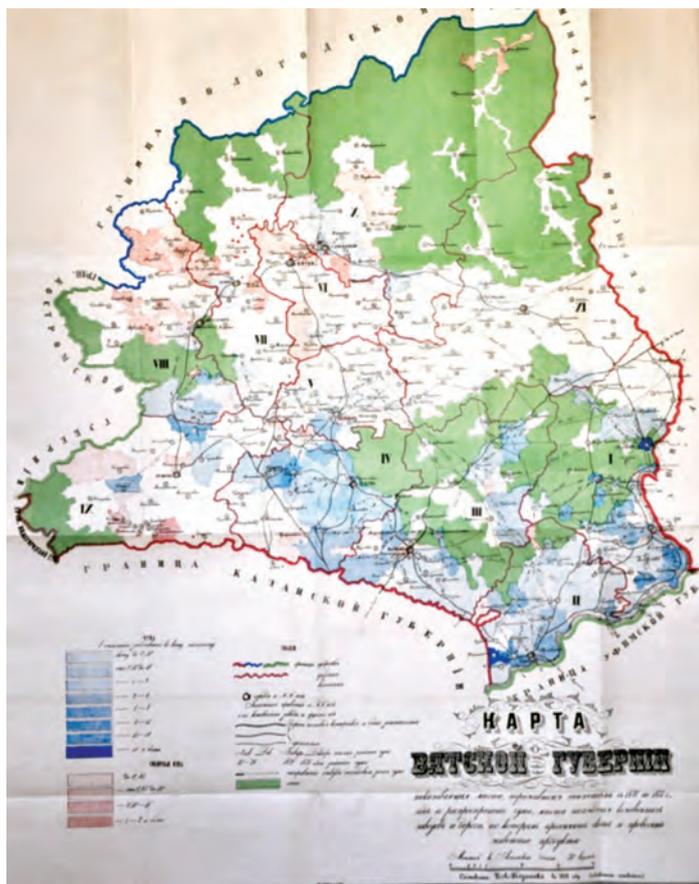


Рис. 3. Карта распространения чумы и сибирской язвы в Вятской губернии, А.И.Козаченко, 1878 г. [37].

А.И.Козаченко – представителя «команды» В.Ф.Нагорского. Данная карта частично проанализирована [15].

Есть и много иных картографических и статистических материалов за период 1860–1914 гг. [38–43]. Начинать обработку информации нужно с ежегодных отчетов Министерства внутренних дел [44–64].

Научные задачи, связанные с обработкой нового массива данных по сибирской язве

Специфика ситуации с выявленным массивом знаний по сибирской язве в том, что требуется его большая предварительная обработка. В 2011–2018 гг. нами предпринимались попытки организации такого рода проектов, оказавшиеся неудачными. Причины неудач были различными. Одна из них в том, что в разработке этой тематики всегда доминировали ветеринары и эпидемиологи, которые категорически не понимали значимости, сложности и трудоемкости именно первоначальной обработки инфекционных данных по Российской империи. Все сводилось к созданию электронной таблицы и (как можно более быстрому) переводу ее на уровень цифровой карты. Это определялось как конечный результат. Проблемы геокодирования информации отмечались. Итогом становилась некачественная работа.

Обработка массива имперских сибиреязвенных данных подразумевает ряд этапов. Данные нельзя просто занести в электронную таблицу и затем сделать цифровые карты. Если поступать таким образом, что и делалось в указанных проектах по обработке «базы Черкасского» [2–8], получится

некий вариант научного результата – плацебо. Будет современная цифровая тематическая карта, но ее содержание останется крайне неопределенным. Она может содержать невероятное количество как содержательных, так и технических (операторских) промахов. Обычно они связаны с ошибками занесения данных и сложностью последующей верификации этого процесса. Основной массив ошибок связан с некачественным геокодированием данных. Проблема «решается» тем, что для цифровой карты выбирается «спасительный» масштаб (1 : 1 000 000 или что-то аналогичное). Условно говоря, это «масштаб пачки сигарет» для всей территории Российской империи или СССР. На нем многочисленные промахи геокодирования обнуляются.

Корректная обработка ценнейшей информации по сибирской язве в Российской империи должна начинаться с пропедевтики данных. Нужно обработать массив таким образом, чтобы использовать именно качественные данные, исключая семантические и операторские ошибки современных экспертов.

Эта работа требует проекта с вполне большим количеством участников. Обработка данных «базы Черкасского» и ее поверхностная аналитика делались в рамках проектов по два и три года. В данном случае срок проекта может быть до четырех лет. Увеличение связано с очень большим массивом данных. Для качественной реализации этого проекта нужны:

- **эксперты по ГИС.** Данные по сибирской язве можно и нужно представить на современных цифровых картах. Задача очень далека от тривиальности. Ее нельзя «купить», как это часто делается в ГИС-проектах. То есть дело не в том, чтобы дать деньги на проект и за 2–3 года атрибутивные данные привести в соответствие с требованиями реляционных баз данных, используемых в ГИС-технологии. Нужны эксперты, понимающие, что даже самые современные ГИС-программы не вполне употребимы для использования массива именно инфекционной информации. Программа переработает массив информации и выдаст цифровые карты, но что они означают и есть ли в них хоть какой-то смысл, сказать будет намного сложнее. Критический анализ использования ГИС для обработки информации по сибирской язве сделан [65];

- **эксперты по почве и грунтам.** *B. anthracis* связан с почвой. Это его естественная среда. Перемены в почве ведут к активизации патогенных свойств этого микроорганизма. Но мы говорим про почвы периода времени 1800–1914 гг. Какими они были? Какой была почва Барабинской степи на момент ее первой вспашки? Что отличает почвы и грунты территорий на которых был построен Новоладожский канал? Вторжение в почвы и грунты именно этой территории, привело к самой крупной в мировой истории зарегистрированной вспышке проявления патогенных свойств *B. anthracis*. Есть множество вопросов, на которые далеко не просто дать ответы. Привлечение сколь угодно грамотных экспертов по почве и грунтам без учета того, что мы говорим про экологию микроорганизма, приведет к чисто формальному выполнению работы. При исследовании закономерностей проявления сибирской язвы оно часто имеет место при наложении почвенных карт на места проявления сибирской язвы. Все просто как мычание. Чисто механическая процедура, ведущая к определению псевдозакономерностей. Примером

может быть серия карт по Украине. Это случай того как не нужно работать с инфекционными данными [66–68];

• **эксперты по климату и возможным инфекционным последствиям его перемен.** Материалы по сибирской язве XIX в., времени, когда она носила повсеместный характер и количество заболеваний исчислялось миллионами случаев, однозначно говорят относительно связи повышения температур и проявления патогенных свойств данного микроорганизма. Это видно на приведенном выше графике, сделанном по материалам В.Ф.Нагорского. Манифестация сибирской язвы в естественных условиях есть некое сочетание антропогенной активности и высоких температур. Температуры лета могут быть различными, но они всегда выше температур для данной территории иных сезонов. Важен градиент температурных показателей. 4/5 случаев сибирской язвы в естественных условиях связано именно с температурным градиентом. Восстановление истории манифестации сибирской язвы в Российской империи – это и детальнейшее исследование перемен климата и массивованного проявления патогенных свойств *B. anthracis* именно в этой связи [69];

• **эксперты по истории и архивному делу.** Когда эпидемиологи и ветеринары СССР много лет повторяли тезис относительно того, что «данные по сибирской язве в Российской империи утеряны», они были правы. Правы в своих терминах. Не было данных в привычных форматах их изложения и с обязательными ограничениями доступа к информации. Данные есть, но они существуют в непривычном для эпидемиологов и ветеринаров формате. Их вовлечение в научный оборот требует привлечения историков и специалистов по архивному делу. В 2010 г. были сделаны первые шаги в этом направлении. Открытие имперского массива данных отчасти стало и результатом того, что один из авторов данной статьи много лет работал по исторической географии [70]. Это подразумевает детальное знание методологии и техники работы с архивными данными. Как только стал вестись корректный и систематический поиск данных, сразу стали появляться многочисленные результаты по проявлениям сибирской язвы в прошлом. Нужно правильно формулировать научный вопрос, а не требовать от экспертов XIX в. соответствия бюрократическим стандартам, введенным во времена «холодной войны»;

• **эксперты по административно-территориальному делению (АТД) и системе расселения в Российской империи.** Работа с этим массивом данных по сибирской язве – это непрерывное обращение к информации по системе расселения и многочисленным переменам АТД в Российской империи. На них наслонились многократные и сложные перемены АТД в СССР и новейшие перемены в постсоветских государствах. Локализация сибиреязвенной информации всегда давалась не в абсолютных координатах, а по населенным пунктам и единицам АТД. Это были селения, волости, уезды, губернии. Восстановление информации для ГИС-обработки требует много времени. Обычно данная тема рассматривается с точки зрения управления территориями, но там нет проблемы точного определения места расположения некоего селения, а именно по ним давались данные по сибирской язве. Фактически нужно развивать новое направление исследований и по указанным вопросам. Если этого не будет,

нет никакой возможности сделать корректное геокодирование значимого массива атрибутивной информации по сибирской язве. Такие специалисты есть [71]. Дело в их привлечении к обработке данных по сибирской язве.

Что получится в итоге обработки информации по проявлениям сибирской язвы на территории Российской империи?

Первое. Корректная информация относительно пространственно-временной динамики проявления сибирской язвы в естественных условиях. Данные XIX в. дают уникальную возможность решения этой научной задачи. Уже были научные регистрации. До конца XIX в. не было массивованного использования вакцинаций. Заболевания домашнего скота и людей есть своего рода индикатор естественной географии сибиреязвенного процесса. Это отличная основа выявления естественной географии *B. anthracis*.

Четко формулируется вывод относительно связи антропогенной активности и манифестации патогенных свойств *B. anthracis*. Условно говоря, «первая вспашка» земли может порождать и первую проблему с сибирской язвой. Происходит случайное и массивованное наложение естественной географии *B. anthracis* и антропогенной активности на данной территории [72, 73]. У данного микроорганизма нет случайного распространения. Его географические закономерности корректно не исследовались по причине того, что не развита фундаментальная идея (гипотеза) естественной географии почвенных микроорганизмов.

Второе. Корректное определение роли фактора роста температуры для проявления патогенности *B. anthracis*. В естественных условиях сибирская язва есть «летнее заболевание». Она есть следствие перемены в экологических условиях микроорганизма и естественной ему среды. Вероятно, проявление патогенности при повышении температур выступает как адаптивная реакция микроорганизма и его среды обитания [11, 12]. Тема перемен климата и возможных инфекционных последствий этого процесса не сходит со страниц прессы. Есть несомненные новинки инфекционной активности. Можно вспомнить сибирскую язву в тундре 2016 г. На основании проделанной работы с массивом имперских данных по сибирской язве можно на реально высоком научном уровне выйти на исследование темы связи перемен климата и проявления патогенности микроорганизмов на планете Земля. В имперском массиве знания есть ценнейшие указания на типовые проявления этой связи.

Только один пример. Потепление климата в зоне тундры стали регистрировать уже в 1880-е годы. В это же время были зарегистрированы первые массивованные вспышки сибирской язвы у северных оленей. Ранее их не было [74–79]. Вакцинирование северных оленей решило проблему заболеваний. Но мы говорим только про «индикаторы» инфекционного процесса. Вакцинированный домашний скот массово не погибает от сибирской язвы, но что происходит с *B. anthracis* в почве?

Заключение

Есть гигантский и необработанный массив информации по проявлениям сибирской язвы на территории Российской империи. Коллеги регистрировали то, что сейчас нет возможности себе даже представить. Смертельное инфекцион-

ное заболевание было частью повседневной жизни. Обработка имперского массива инфекционной информации позволяет выйти на новое фундаментальное понимание экологии и эволюции проявления патогенных свойств *B. anthracis*. Это значимо в связи с исследованием перемен климата и потенциальными переменами в проявлении патогенных свойств микроорганизмов. Есть возможность реконструировать ряд данных по инфекционным заболеваниям за период с начала 1800-х годов и до настоящего времени. Полученную информацию можно сопоставить с климатическими переменами и изменениями природной среды за указанный период времени. Работа сложная, но выполняемая.

Литература

1. Черкасский БЛ. Кадастр стационарно неблагополучных по сибирской язве пунктов в Российской Федерации. М.: ОАО «ИнтерСЭН»; 2005, 829 с.
2. Anthrax in Georgia: 2000-2010. Nikoloz Tsertsvadze, Lela Bakanidze, Paata Imnadze, Lile Malania, Shota Tsanava and Julietta Manvelyan – National Center for Disease Control of Georgia, Tbilisi, Georgia; Ian Kracalik and Jason Blackburn – Spatial Epidemiology and Ecology Research Lab, Department of Geography and Emerging Pathogens Institute, University of Florida; Gainesville FL, Elizabeth Rác S – H.W. Manter Laboratory, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, NE.
3. Blackburn JK, Hugh-Jones ME, Dorrell D, Parkinson R, Sansyrbayev Y, Aikimbayev AM, Curtis, A. Preliminary analysis of the spatial ecology of anthrax in North America and Kazakhstan. Poster/Abstract. В. ACT Conference 2005. 25–29 September 2005. Santa Fe, New Mexico, United States.
4. Monitoring and Mapping Anthrax in Livestock from Georgia 2009–2010. Marina Nikolaishvili, T. Onashvili, L. Kerdzevadze, E. Mamisashvili, K. Goginashvili, T. Tigilauri, M. Zakareishvili, I. Beradze, M. Donduashvili; M. Kokhraidze – Laboratory for the Ministry of Agriculture, Tbilisi, Georgia Ian Kracalik and Jason Blackburn – Spatial Epidemiology and Ecology Research Lab, Department of Geography and Emerging Pathogens Institute, University of Florida, Gainesville FL. Elizabeth Rác S – H.W. Manter Laboratory, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, FL.
5. Pazilov YL, Lukhnova Z, Sagiyevev G, Temiraliyeva T, Meka-Menchenko Y, Sansyrbayev M, et al. Decadal spatio-temporal analyses of anthrax outbreaks in Kazakhstan from 1937 to the present. Oral Presentation. URISA's GIS in Public Health Conference, May 20 – 23, 2007, New Orleans, Louisiana.
6. Sagiyevev Z, Pazilov Y, Lukhnova L, Temiraliyeva G, Meka-Menchenko T, Sansyrbayev Y, et al. Spatial hotspots of anthrax cases in Kazakh livestock: identifying control strategy needs. Oral Presentation. URISA's GIS in Public Health Conference, May 20–23, 2007, New Orleans, Louisiana.
7. Bagamian KH, Skrypnyk A, Rodina Y, Bezymennyi M, Nevolko O, Skrypnyk V, Blackburn JK. Serological anthrax surveillance in wild boar (*Sus scrofa*) in Ukraine. Vector Borne Zoonotic Dis. 2014 Aug;14(8):618-20. DOI: 10.1089/vbz.2013.1521
8. Hightower J, Kracalik IT, Vydayko N, Goodin D, Glass G, Blackburn JK. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. Parasit Vectors. 2014 Oct 16;7:453. doi: 10.1186/s13071-014-0453-2
9. Николаенко ДВ. Энвайронментальная эпидемиология и провалы географической и картографической обработки эпидемиологических данных. Псковский регионологический журнал. 2010;9:110-120.
10. Николаенко ДВ. Основы ГИС. Программа курса лекций, прочитанных в 2007–2009 годах в Киеве. Энвайронментальная эпидемиология. 2010;4(1):106-123.
11. Николаенко ДВ. Геоинформационное моделирование проявления патогенных свойств микроорганизмов и гипотеза инфекции-свойства. Динамика геосистем и оптимизация природопользования. Иркутск: Изд-во Института географии им. В.Б. Сочавы СО РАН; 2010, с. 167-169.
12. Николаенко ДВ. География невидимого мира и ее ГИС-объяснение. Доклад. Энвайронментальная эпидемиология. 2010;4(2):179-92.
13. Николаенко ДВ. Америка знания. Парадигма теоретической эпидемиологии. Энвайронментальная эпидемиология. 2010;4(3):358-738.
14. Николаенко ДВ. Два образа нанокартографии. Diskussionsbeiträge zur Kartosemiotik und zur Theorie der Kartographie. Internationales Korrespondenz-Seminar. Vol. 13/2010. Dresden: Technische Universität Dresden, S. 7-14.
15. Фидлер Б, Николаенко Д. Тематическое картографирование по инфекционным заболеваниям в Российской империи: утраченный массив информации? Энвайронментальная эпидемиология. 2019;13(2):4-17.
16. Фидлер Б, Николаенко Д. ГИС обработка информации отчетов по сибирской язве времен Российской империи и новые задачи палеоэпидемиологии. Энвайронментальная эпидемиология. 2019;13(1):27-44.
17. Колесников НФ. Материал к учению о сибирской язве (клинические, патолого-анатомические и экспериментальные исследования). Архив ветеринарных наук (АВН). Том 5, 1889, с. 65-100.
18. Левицкий А. Сибирская язва в Новоладожском уезде С.-Петербургской губ. летом 1881 года (с дополнительными сведениями об этой болезни в уезде в течение последних 12 лет, с 1871–1882 включительно, с таблицами и диаграммами в тексте). Диссертация на степень магистра ветеринарных наук. СПб., 1883, 127 с. Серия «Материалы к изучению сибирской язвы».
19. Николаенко Д. «Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи»: дорога в несколько лет. Энвайронментальная эпидемиология. 2013;7(3):6-12.
20. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 1. Энвайронментальная эпидемиология. 2013;7(3):4-294.
21. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 2. Энвайронментальная эпидемиология. 2013;7(4):1-245.
22. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 3. Энвайронментальная эпидемиология. 2013;7(5):1-239.
23. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 4. Энвайронментальная эпидемиология. 2014;8(3):1-483.
24. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 5. Энвайронментальная эпидемиология. 2014;8(4):1-345.
25. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 6. Энвайронментальная эпидемиология. 2014;8(5):1-328.
26. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 7. Энвайронментальная эпидемиология. 2015;9(3):1-319.
27. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 8. Энвайронментальная эпидемиология. 2015;9(4):1-407.
28. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 9. Энвайронментальная эпидемиология. 2015;9(5):1-496.
29. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 10. Энвайронментальная эпидемиология. 2016;10(2):1-406.
30. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 11. Энвайронментальная эпидемиология. 2016;10(3):1-461.
31. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 12. Энвайронментальная эпидемиология. 2016;10(4):1-444.
32. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 13. Энвайронментальная эпидемиология. 2017;11(2):3-356.
33. Палеоэпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 14. Энвайронментальная эпидемиология. 2017;11(4):3-205.
34. Нагорский ВФ. Теоретическая эпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 1. Энвайронментальная эпидемиология. 2019;13(3). (в печати).
35. Нагорский ВФ. Теоретическая эпидемиология сибирской язвы в Российской империи. Том 2. Энвайронментальная эпидемиология. 2019;13(4). (в печати)
36. Нагорский В. Опыт эпизоотологии, как учение о причинах и процесса массового развития заразных болезней домашних животных. Предупреждений

- эпизоотий и борьба с ними. Сибирская язва. Приложение к журналу «Архив ветеринарных наук» за 1902 г. Книга 7; Приложение к журналу «Архив ветеринарных наук» за 1903 г. Книга 11. С. 1-96.
37. Козаченко ИА. Карта Вятской губернии, показывающая места, пораженные эпизоотиями с 1870 по 1877 г., ход и распространение чумы, места нахождения. Вятка, 1878.
 38. Козаченко И. Реферат: Нагорский В. Чума рогатого скота в Царскосельском уезде в 1876 и 1877 годах и в Петергофском в 1878 году. Отчеты губернской управе. С картами и диаграммами в тексте. Санкт-Петербург 1879 года. АВН, 1879, Том 2. с. 232-33.
 39. Козаченко ИА. Статистика эпизоотий в Вятской губернии. Архив ветеринарных наук. 1879. Том 1, с. 3-19; продолжение: Том 2. с. 47-82; окончание: Том 3. с. 91-126.
 40. Козаченко ИА. Статистические сведения о скотоводстве в Вятской губернии. Архив ветеринарных наук. 1878. Том 1, с. 1-23; окончание: Том 2, с. 25-38.
 41. Козаченко И. Об устройстве земской ветеринарной медицины в Вятской губернии. АВН, 1881, книжка первая. С. 15-28; продолжение: книжка вторая. С. 29-40; окончание: книжка четвертая. С. 118-134.
 42. Карта из работы: Журналы особых совещаний, происходивших при Медицинском Департаменте с 21 марта по 1 апреля 1888 г. для обсуждения вопроса о порядке передвижения крупного рогатого скота и овец в европейской России. СПб., 1888. АВН, 1888, книжка первая. Приложение.
 43. Карты из работы: Отчет Медицинского Департамента Министерства Внутренних Дел за 1877 год часть ветеринарная. АВН, 1878, книжка третья. Приложение.
 44. Отчет медицинского департамента за 1876 год. СПб., Министерство внутренних дел, 1877.
 45. Отчет Медицинского департамента за 1877 год. СПб., Министерство внутренних дел, 1878.
 46. Отчет медицинского департамента за 1878 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 47. Отчет медицинского департамента за 1879 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 48. Отчет Медицинского департамента по Ветеринарной части за 1880 год. СПб., Министерство внутренних дел, 1882.
 49. Отчет медицинского департамента за 1881 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 50. Отчет Медицинского департамента Министерства Внутренних дел за 1882 год. СПб., Министерство внутренних дел, 1885.
 51. Отчет медицинского департамента за 1883 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 52. Отчет медицинского департамента за 1885 год. Часть медицинская. СПб., Министерство внутренних дел, 1887.
 53. Отчет медицинского департамента за 1886 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 54. Отчет Медицинского Департамента Министерства Внутренних Дел за 1877 год. Часть ветеринарная. АВН, 1878, книжка третья. Приложение.
 55. Отчет медицинского департамента за 1888 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 56. Отчет медицинского департамента за 1891 год. СПб., Министерство внутренних дел. 1894.
 57. Отчет медицинского департамента за 1892 год. СПб., Министерство внутренних дел, 1896.
 58. Отчет медицинского департамента по ветеринарному отделению за 1892 год. СПб., Министерство внутренних дел, 1893.
 59. Отчет Ветеринарного отделения Министерства Внутренних дел за 1896 год. СПб., Министерство внутренних дел, 1899.
 60. Отчет медицинского департамента за 1900 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 61. Отчет медицинского департамента за 1901 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 62. Отчет медицинского департамента за 1902 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 63. Отчет медицинского департамента за 1903 год. СПб., Министерство внутренних дел.
 64. Отчет по ветеринарной части в России за 1904 – 1906 годы. Спб, Ветеринарное управление Министерства внутренних дел, 1910. 650 с.
 65. Николаенко ДВ. Три карты + 25 томов атласов. Возвращаясь к советской эпидемиологии. Доклад. Энвайронментальная эпидемиология. 2010;4(2):193-222.
 66. Шевченко ВА, Бондаренко ЕЛ, Дончук СВ. Украина. Региональные особенности риска заражения населения сибирской язвой. Карта. Масштаб 1 : 2 500 000. К., 2004.
 67. Шевченко ВА, Бондаренко ЕЛ, Дончук СВ. Украина. Региональные особенности риска заражения населения лептоспирозом. Карта. Масштаб 1 : 2 500 000. К., 2004.
 68. Шевченко ВА, Бондаренко ЕЛ, Дончук СВ. Украина. Региональные особенности риска заражения населения туляремией. Карта. Масштаб 1 : 2 500 000. К., 2006.
 69. Николаенко ДВ. Инфекционная экология и перемены климата. Энвайронментальная эпидемиология. 2018;12(1):31-38.
 70. Николаенко ДВ. Теория и методология исследования пространства и времени. Сочинения. Том 2. СПб.: «Амадеус»; 2002, 138 с.
 71. Тархов СА. Историческая эволюция административно-территориального и политического деления России. Регионализация и развитие России: географические процессы и проблемы. М.: Эдиториал; 2001, с. 191-213.
 72. Николаенко ДВ. Скотомогильник как объект и предмет исследования. План характеристики и локализация. Доклад. Энвайронментальная эпидемиология. 2011;5(2):189-210.
 73. Николаенко ДВ. Скотомогильник как объект и предмет естественнонаучного исследования. Случай Украины. Энвайронментальная эпидемиология. 2011;5(2):211-330.
 74. Эккерт НИ. Повальные болезни северных оленей. Предварительный отчет Ветеринарному Управлению. АВН, 1898, книга 1-я. С. 1-31; окончание: книга вторая. С. 51-99.
 75. Эккерт НИ. Новые опыты вакцинации северных оленей. АВН, 1900, книга 4-я. С. 145-194.
 76. Бейнарович СК. Вакцинация северных оленей против сибирской язвы в 1907 году. АВН, 1910, книга 5-я. С. 580-599; окончание: книга 6-я. С. 669-711.
 77. Родионов. О сибирезязвенных прививках в Тиманской тундре в 1911 году. Предварительное сообщение. АВН, 1912, книга 1-я. с. 1-23.
 78. Баутц Ф. К вопросу о сибирской язве среди северных оленей. АВН, 1913, книга 8-я. с. 823-841.
 79. Андреев ПН. К вопросу об иммунизации северных оленей против сибирской язвы. Отчет о ревизии Печерской ветеринарно-бактериологической лаборатории М.В.Д. в научном отношении. АВН, 1914, книга 6-я. с. 661-705.

References

1. Cherkassky BL. Cadastre of items permanently dysfunctional for anthrax in the Russian Federation. Moscow: JSC "InterSEN" Publ.; 2005, 829 p. (In Russian).
2. Anthrax in Georgia: 2000-2010. Nikoloz Tsertsvadze, Lela Bakanidze, Paata Imnadze, Lile Malania, Shota Tsanava and Julietta Manvelyan – National Center for Disease Control of Georgia, Tbilisi, Georgia; Ian Kracalik and Jason Blackburn – Spatial Epidemiology and Ecology Research Lab, Department of Geography and Emerging Pathogens Institute, University of Florida; Gainesville FL, Elizabeth Rác S – H.W. Manter Laboratory, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, NE.

3. Blackburn JK, Hugh-Jones ME, Dorrell D, Parkinson R, Sansyzbayev Y, Aikimbayev AM, Curtis, A. Preliminary analysis of the spatial ecology of anthrax in North America and Kazakhstan. Poster/Abstract. B. ACT Conference 2005. 25–29 September 2005. Santa Fe, New Mexico, United States.
4. Monitoring and Mapping Anthrax in Livestock from Georgia 2009–2010. Marina Nikolaishvili, T. Onashvili, L. Kerdzevadze, E. Mamisashvili, K. Goginashvili, T. Tigilauri, M. Zakareishvili, I. Beradze, M. Dondushvili; M. Kokhreizze – Laboratory for the Ministry of Agriculture, Tbilisi, Georgia Ian Kracalik and Jason Blackburn – Spatial Epidemiology and Ecology Research Lab, Department of Geography and Emerging Pathogens Institute, University of Florida, Gainesv S. Elizabeth Rác – H.W. Manter Laboratory, University of Nebraska-Lincoln, Lincoln, FL.
5. Pazilov YL, Lukhnova Z, Sagiyev G, Temiraliyeva T, Meka-Menchenko Y, Sansyzbayev M, et al. Decadal spatio-temporal analyses of anthrax outbreaks in Kazakhstan from 1937 to the present. Oral Presentation. URISA's GIS in Public Health Conference, May 20 – 23, 2007, New Orleans, Louisiana.
6. Sagiyev Z, Pazilov Y, Lukhnova L, Temiraliyeva G, Meka-Menchenko T, Sansyzbayev Y, et al. Spatial hotspots of anthrax cases in Kazakh livestock: identifying control strategy needs. Oral Presentation. URISA's GIS in Public Health Conference, May 20–23, 2007, New Orleans, Louisiana.
7. Bagamian KH, Skrypnik A, Rodina Y, Bezymennyi M, Nevolko O, Skrypnik V, Blackburn JK. Serological anthrax surveillance in wild boar (*Sus scrofa*) in Ukraine. Vector Borne Zoonotic Dis. 2014 Aug;14(8):618-20. DOI: 10.1089/vbz.2013.1521
8. Hightower J, Kracalik IT, Vydayko N, Goodin D, Glass G, Blackburn JK. Historical distribution and host-vector diversity of *Francisella tularensis*, the causative agent of tularemia, in Ukraine. Parasit Vectors. 2014 Oct 16;7:453. doi: 10.1186/s13071-014-0453-2
9. Nikolaenko DV. Environmental epidemiology and failures of geographical and cartographical processing of epidemiological data. Pskov Regional Journal. 2010;9:110-120 (In Russian).
10. Nikolaenko DV. GIS Basics. The program of lectures delivered in 2007–2009 years in Kiev. Environmental Epidemiology. 2010;4(1):106-23 (In Russian).
11. Nikolaenko DV. Geoinformation modeling of the manifestation of pathogenic properties of microorganisms and the infection-property hypothesis. The dynamics of geosystems and environmental management. Irkutsk: Institute of Geography SB RAS; 2010, p. 167-169 (In Russian).
12. Nikolaenko DV. Geography of the invisible world and its GIS explanation. Report. Environmental Epidemiology. 2010;4(2):179-92. (In Russian).
13. Nikolaenko DV. America of knowledge. The paradigm of theoretical epidemiology. Environmental Epidemiology. 2010;4(3):358-738 (In Russian).
14. Nikolaenko DV. Two images of nanocartography. Diskussionsbeiträge zur Kartosemiotik und zur Theorie der Kartographie. Internationales Korrespondenz-Seminar. Vol. 13/2010. Dresden: Technische Universität Dresden, S. 7-14.
15. Fiedler BA, Nikolaenko D. Thematic mapping of infectious diseases in the Russian Empire: a lost array of information? Environmental Epidemiology. 2019;13(2): 4-17. (In Russian).
16. Fiedler BA, Nikolaenko D. GIS data processing of anthrax reports from the time of the Russian Empire and new tasks of Paleoepidemiology. Environmental Epidemiology. 2019;13(1):27-44. (In Russian).
17. Kolesnikov NF. Material for the doctrine of anthrax (clinical, pathoanatomical and experimental studies). Archive of Veterinary Sciences, 1889, Vol. 5. p. 65-100 (In Russian).
18. Levitsky A. Anthrax in the Novoladozhsky district of S.-Petersburg province. In the summer of 1881 (with additional information about this disease in the district for the past 12 years, from 1871–1882 inclusive, with tables and diagrams in the text). Thesis for a master's degree in veterinary science. St. Petersburg, 1883, 127 p. Series "Materials for the study of anthrax" (In Russian).
19. Nikolaenko D. "Paleoepidemiology of anthrax in the Russian Empire": the road in several years. Environmental Epidemiol. 2013;7(3):6-12 (In Russian).
20. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 1. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2013;7(3):4-294 (In Russian).
21. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 2. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2013;7(4):3-245 (In Russian).
22. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 3. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2013;7(5):3-239 (In Russian).
23. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 4. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2014;8(3):3-483 (In Russian).
24. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 5. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2014;8(4):3-345 (In Russian).
25. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 6. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2014;8(5):3-328 (In Russian).
26. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 7. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2015;9(3):3-319 (In Russian).
27. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 8. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2015;9(4):3-407 (In Russian).
28. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 9. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2015;9(5):2015;9(5):3-496. (In Russian).
29. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 10. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2016;10(2):3-406 (In Russian).
30. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 11. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2016;10(3):3-461 (In Russian).
31. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 12. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2016;10(4):3-444 (In Russian).
32. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 13. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2017;11(2):3-356 (In Russian).
33. Paleoepidemiology of anthrax in Russian Empire. Volume 14. Edited by Dmitry Nikolaenko. Environmental Epidemiology. 2017;11(4):3-205 (In Russian).
34. Nagorsky VF. Theoretical epidemiology of anthrax in the Russian Empire. Volume 1. Environmental Epidemiology. 2019;13(3). (in print) (In Russian).
35. Nagorsky VF. Theoretical epidemiology of anthrax in the Russian Empire. Volume 2. Environmental Epidemiology. 2019;13(4). (in print). (In Russian).
36. Nagorsky V. Experience of epizootology as a doctrine of the causes and process of mass development of infectious diseases of domestic animals. Epizootic warning and control. Anthrax. Appendix to the journal "Archive of Veterinary Sciences" for 1902, Book 7; Appendix to the journal "Archive of Veterinary Sciences" for 1903. Vol. 11. p. 1-96. (In Russian).
37. Kozachenko IA. A map of the Vyatka province showing places affected by epizootics from 1870 to 1877, the course and spread of the plague, and location. Vyatka, 1878. (In Russian).
38. Kozachenko I. Summary: Nagorsky V. The cattle plague in Tsarskoye Selo in 1876 and 1877 and in Petergovsky in 1878. Reports of the provincial government. With maps and charts in the text. St. Petersburg 1879. Archive of Veterinary Sciences, 1879, Vol. 2. p. 232-33. (In Russian).
39. Kozachenko IA. Statistics of epizootics in the Vyatka province. Archive of Veterinary Sciences. 1879. Vol. 1. p. 3-19; continued: Vol. 2. p. 47-82; ending: Vol. 3. p. 91-126. (In Russian).
40. Kozachenko IA. Statistics on cattle breeding in the Vyatka province. Archive of Veterinary Sciences. 1878. Vol. 1. p. 1-23; ending: Vol. 2. p. 25-38 (In Russian).
41. Kozachenko I. About the device of zemstvo veterinary medicine in the Vyatka province. Archive of Veterinary Sciences, 1881, first book. p. 15-28; continued: the second book. p. 29-40; ending: fourth book. p. 118-134 (in Russian).
42. Map from the work: Journals of special meetings held at the Medical Department from March 21 to April 1, 1888 to discuss the question of the movement of cattle and sheep in European Russia. St. Petersburg, 1888 (Archive of Veterinary Sciences, 1888, first book. Appendix). (In Russian).
43. Maps from work: Report of the Medical Department of the Ministry of Internal Affairs for 1877, part of the veterinary (Archive of Veterinary Sciences, 1878, book three. Appendix). (In Russian).

44. Report of the medical department for 1876. St. Petersburg, Ministry of the Interior, 1877. (In Russian).
45. Medical Department Report for 1877. St. Petersburg, Ministry of the Interior, 1878. (In Russian).
46. Medical Department Report for 1878. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
47. Medical Department Report for 1879. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
48. Report of Medical department about Veterinary. 1880. St. Petersburg, Ministry of the Interior, 1882 (In Russian).
49. Medical Department Report for 1881. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
50. Report of the Medical Department of the Ministry of the Interior for 1882. St. Petersburg, Ministry of the Interior, 1885. (In Russian).
51. Medical Department Report for 1883. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
52. Medical Department Report for 1885. Medical part. St. Petersburg, Ministry of the Interior, 1887 (In Russian).
53. Medical Department Report for 1886. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
54. Report of the Medical Department of the Ministry of the Interior for 1877. The part is veterinary. Archive of Veterinary Sciences, 1878, Book Three. Suppl (In Russian).
55. Medical Department Report for 1888. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
56. Medical Department Report for 1891. St. Petersburg, Ministry of the Interior. 1894. (In Russian).
57. Report of the medical department for 1892. St. Petersburg, Ministry of the Interior, 1896. (In Russian).
58. Report of the Medical Department of the Ministry of the Interior for 1892. St. Petersburg, Ministry of the Interior, 1896. (In Russian).
59. Report of the Veterinary Department of the Ministry of the Interior for 1896. St. Petersburg, Ministry of the Interior, 1899. (In Russian).
60. Medical Department Report for 1900. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
61. Medical Department Report for 1901. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
62. Medical Department Report for 1902. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
63. Medical Department Report for 1903. St. Petersburg, Ministry of the Interior. (In Russian).
64. Veterinary Report in Russia for 1904–1906. St. Petersburg, Veterinary Administration of the Ministry of the Interior, 1910. 650 p. (In Russian).
65. Nikolaenko DV. Three maps + 25 volumes of atlases. Returning to Soviet epidemiology. Report. Environmental Epidemiology. 2010;4(2):193-222 (In Russian).
66. Shevchenko VA, Bondarenko EL, Donchuk SV. Ukraine. Regional features of the risk of infecting anthrax. Map. Scale 1: 2 500 000. Kiev, 2004. (In Ukrainian).
67. Shevchenko VA, Bondarenko EL, Donchuk SV. Ukraine. Regional features of the risk of leptospirosis infection. Map. Scale 1: 2 500 000. Kiev, 2004. (In Ukrainian).
68. Shevchenko VA, Bondarenko EL, Donchuk SV. Ukraine. Regional features of the risk of infection with tularemia. Map. Scale 1: 2 500 000. Kiev, 2006 (In Ukrainian).
69. Nikolaenko DV. Infectious ecology and climate change. Environmental Epidemiology. 2018;12(1):31-8 (In Russian).
70. Nikolaenko D.V. Theory and methodology of the study of space and time. Works. Volume 2. St. Petersburg, Amadeus, 2002, 138 p. (In Russian).
71. Tarkhov SA. The historical evolution of the administrative-territorial and political division of Russia. Regionalization and development of Russia: geographical processes and problems. Moscow, Editorial, 2001, p. 191-213 (in Russian).
72. Nikolaenko DV. Cattle cemetery as an object and subject of research. Characterization plan and localization. Report. Environmental epidemiology. 2011;5(2):189-210. (In Russian).
73. Nikolaenko DV. Cattle cemetery as an object and subject of natural science research. The case of Ukraine. Environmental Epidemiology. 2011;5(2):211-330. (In Russian).
74. Ekkert NI. Epidemic diseases of reindeer. Preliminary report to the Veterinary Office. Archive of Veterinary Sciences, 1898, Book 1. S. 1-31; ending: the second book. p. 51-99. (In Russian).
75. Ekkert N.. New experiences in vaccinating reindeer. Archive of Veterinary Sciences, 1900, Book 4. p. 145-194. (In Russian).
76. Beinarovich SK. Vaccination of reindeer against anthrax in 1907. Archive of Veterinary Sciences, 1910, book 5th. P. 580-599; ending: book 6th. p. 669-711. (In Russian).
77. Rodionov. About anthrax vaccinations In the Timan tundra in 1911 (Preliminary report) Archive of Veterinary Sciences, 1912, book 1, p. 1-23. (In Russian).
78. Bautz F. On the issue of anthrax among reindeers. Archive of Veterinary Sciences, 1913, book 8th, p. 823-841. (In Russian).
79. Andreev PN. On the issue of immunization of reindeer against anthrax. Report on the audit of the Pechersk Veterinary and Bacteriological Laboratory Ministry of the Interior. Archive of Veterinary Sciences, 1914, book 6th. p. 661-705. (In Russian).

Информация об авторе:

Фидлер Бэт Энн, доктор философии, независимый аналитик
Адрес: 2528 College St. Jacksonville, FL 32204 USA

Information about author:

Bet A. Fidler, Ph.D., freelance analyst.
Address: 2528 College St. Jacksonville, FL 32204 USA

Обзор международной деятельности НИЦ ТБП

Г.А.Жариков

Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов – филиал ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства, Московская область, Российская Федерация

Конверсионные процессы, начавшиеся во ВНИИ ПМ (пос. Оболенск) в 1990-е годы, привели к выделению Научно-исследовательского центра токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов (НИЦ ТБП) в самостоятельное учреждение. Его создание было обусловлено тем, что после распада СССР в России не осталось учреждения, которое выполняло бы функции экспертного органа по токсикологическим (доклиническим) исследованиям вместо Киевского ВНИИ генетики и токсикологии.

Для цитирования: Жариков Г.А. Обзор международной деятельности НИЦ ТБП. Бактериология. 2019; 4(3): 62–64. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-62-64

RC TBP History and Main Activities

G.A.Zharikov

Research Centre for Toxicology and Hygienic Regulation of Biopreparations is an affiliated company for the FSBI State Research Center «Institute of immunology» structured in the Federal Medical and Biological Agency

Several biotechnological companies and two research institutes used to separate from the All-union Research Institute of Applied Microbiology. A participant of those events shares memories of one of them, the Research Center for Toxicology and Biopreparation Hygienic Regulations. The paper also deals with main activities of the institution, emphasizing its international scientific and technical cooperation.

For citation: Zharikov G.A. RC TBP History and Main Activities. Bacteriology. 2019; 4(3): 62–64. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-62-64

НИЦ ТБП был создан по поручению Правительства Российской Федерации совместным приказом Министерства здравоохранения и медицинской промышленности Российской Федерации и Государственного Комитета санитарно-эпидемиологического надзора РФ 21 декабря 1992 г. за №331/114. НИЦ ТБП является головным государственным научно-методическим и экспертным учреждением в Российской Федерации в области токсикологических (доклинических) исследований вновь разрабатываемых биологических препаратов, в том числе медицинского назначения. При принятии этого решения было учтено, что сотрудники отделившихся подразделений ВНИИ ПМ имеют огромный опыт токсикологических исследований, а также высокую квалификацию и опыт работы с особо опасными инфекциями, что в значительной степени облегчило становление нового самостоятельного учреждения.

При формировании научных направлений Центра старались не дублировать уже имеющиеся возможности других институтов, а формировать те из них, которые были востребованы временем и по каким-либо причинам отсутствовали в системе медико-биологических исследований России. Одним из них стало создание условий для токсикологических исследований и проведение доклинических испытаний в соответствии с международными правилами GLP (Good Laboratory Practice – Добротная Лабораторная Практика).



Жариков Геннадий Алексеевич, доктор биологических наук, начальник отдела экологической биотехнологии Научно-исследовательского центра токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов – филиала ФГБУ «Государственный научный центр «Институт иммунологии». Работал во ВНИИ ПМ с 1978 по 1990 годы. Автор более 240 печатных работ, в том числе 6 монографий (с соавторами). Имеет 3 авторских

свидетельства СССР на изобретения, 5 патентов России, 4 международных патентные заявки PCT и 2 патента США.

Выполнение этой задачи позволило создать учреждение, второе после филиала Института биоорганической химии в г. Пущино, где также возможно проведение подобных исследований. Последующая аккредитация со стороны международных организаций AAALAC (Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care – Международная ассоциация по аттестации и аккредитации содержания лабораторных животных) и RAPS (Regulatory Affairs Professionals Society – Международная организация профессионалов здравоохранения) придала учреждению права международного контрольного органа.



Дядищев Николай Романович, директор Федерального государственного учреждения науки «Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов» Федерального медико-биологического агентства России, профессор, доктор медицинских наук. С 1979 по 1993 годы работал во ВНИИ ПМ.

НИЦ ТБП аттестован с 2015 г. на соответствие требованиям GLP, ему приказом № А-3746 присвоен статус соответствия испытательного центра принципам надлежащей лабораторной практики.

В настоящее время НИЦ ТБП является филиалом Федерального государственного бюджетного учреждения «Государственный научный центр «Институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства России.

Научные исследования Центра носят фундаментальный и прикладной характер, охватывают широкий круг задач и развиваются в нескольких направлениях:

- доклинические испытания иммунобиологических и фармацевтических препаратов с представлением необходимой документации для их государственной регистрации;
- токсиколого-гигиеническое нормирование биопрепаратов в объектах окружающей среды;
- токсиколого-гигиенические исследования биологических и химических веществ методом ингаляционного воздействия на лабораторных животных в специальных аэрозольных динамических камерных установках;
- токсиколого-гигиеническая экспертная оценка документов предприятий-разработчиков агрохимикатов (удобрений, биогумуса, почвогрунтов и т.п.) и пестицидов, подаваемых на Государственную регистрацию;
- разработка альтернативных методов в токсикологии с использованием культур клеток и тканей, ограничивающих или исключаящих эксперименты на животных;
- экологический мониторинг и охрана окружающей среды в направлении разработки промышленных технологий переработки отходов производства микробиологических, пищевых, перерабатывающих, целлюлозно-бумажных предприятий в биогумус с использованием специальных линий дождевых червей;



Здание НИЦ ТБП.



Группа ведущих сотрудников НИЦ ТБП.

• разработка технологий биоремедиации почв, загрязненных токсичными химическими веществами (полихлорированными бифенилами, фосфорорганическими пестицидами, нефтепродуктами, полициклическими ароматическими углеводородами, ракетным топливом «гептилом», химическим оружием, этиленгликолем, фенолом...) при помощи природных микроорганизмов–деструкторов и растений.

В структуру НИЦ ТБП входят отделы:

- общей токсикологии;
- патоморфологии и репродуктивной токсикологии;
- аэрозольной токсикометрии;
- экологической биотехнологии;
- аналитической химии и радиобиологии;
- виварий;
- лаборатория иммунологии;
- лаборатория изучения токсичности *in vitro*.

Сотрудники Центра, работающие с животными, имеют хорошую профессиональную подготовку, прошли обучение в России и США по правилам GLP и гуманному обращению с животными, а также ежегодно проходят обучение по программе содержания и использования животных в Центре. В 2001 г. в Центре была создана Комиссия по биоэтике, осуществляющая контроль программы содержания и использования животных, составление программы обучения персонала, проведение обучения.

Сотрудники отдела экологической биотехнологии прошли обучение по работе с микроорганизмами и закончили тренинг-курсы по безопасной работе и пробоотбору по международным стандартам на базе Агентства по охране окружающей среды США (EPA USA) и на выездных курсах EPA USA в России.

В организации имеется музей микроорганизмов-деструкторов токсичных веществ; музей животных-биотестов и лаборатория культур клеток.

В 1996 г. по программе TACIS и в 2002 г. сотрудники Центра прошли курсы в Саксонской Академии менеджмента (г. Дрезден, Германия) по коммерциализации научных разработок.

НИЦ ТБП поддерживает и активно развивает международные контакты. Основными партнерами в области международного сотрудничества являются МНТЦ (Международный научно-технический Центр), IPP (Инициатива по предотвращению распространения оружия) и CRDF (Фонд гражданских исследований).

МНТЦ – межправительственная организация, созданная для «реализации международных научных проектов, а также помощи глобальному научному и деловому сообществу найти и задействовать институты России и стран СНГ, обладающие уникальными научными ноу-хау, для совместных

разработок и ведения бизнеса, интеграции «оружейных» ученых из России и СНГ в мировое научное сообщество». Начиная с 1995 г. в НИЦ ТБП выполнялся целый ряд проектов Международного научно-технического Центра (МНТЦ) по вопросам медицины, доклинических испытаний лекарственных препаратов и экологии.

За это время по линии МНТЦ в НИЦ ТБП было профинансировано свыше 25 проектов в области медицины и экологии.

В июне 2002 г. на базе НИЦ ТБП в рамках МНТЦ был проведен Третий международный ежегодный семинар, посвященный обсуждению совместной программы научных исследований в области биозащиты, которую реализует Оборонное агентство США. При поддержке Программы Глобального Партнерства Министерства иностранных дел и международной торговли Правительства Канады и МНТЦ издано учебно-методическое пособие «Основы биологической безопасности: принципы и практика», в подготовке которого приняли участие специалисты Центра.

С марта по май 2003 г. в соответствии с утвержденным соглашением между МНТЦ, Международным научно-техническим парком (Технопарк) на базе НИЦ ТБП проводились учебные курсы по коммерциализации международных проектов, оказанию методической и консалтинговой поддержки.

В сентябре 2003 г. на базе НИЦ ТБП в рамках МНТЦ и EPA USA были проведены Международные курсы для экспертов из России по обеспечению здоровья и безопасности во время отбора проб почв, воды и воздуха.

Продолжается сотрудничество в области биобезопасности с Некоммерческим партнерством «ТЭМП». Так, в рамках проекта «Адаптация и оценка эффективности Международного стандарта по управлению лабораторными биорисками CEN в микробиологических лабораториях Российской Федерации» в 2009 г. (проект МНТЦ # 8463) совместно с НП «ТЭМП» был проведен анализ соответствия Международного стандарта законодательным документам Российской Федерации в области обеспечения безопасности работ с микроорганизмами 1–4 групп патогенности и разработаны «Исходные требования к методологии оценки лабораторных биорисков, применительно к деятельности лабораторий Федерального медико-биологического агентства».

По линии CRDF было профинансировано 3 проекта, в рамках проекта «Diversa» – Российский экологический центр по изучению микробного биоразнообразия в России.

Научно-исследовательский центр токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов приглашает к широкому научному сотрудничеству различные организации России и зарубежных стран.

Очерк о деятельности ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России

И.П.Мушчак, О.Н.Доброхотский

ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России, Оболенск, Российская Федерация

Essay on the activities of the medical unit No. 164

I.P.Mushchak, O.N.Dobrohotsky

Medical unit No. 164, Federal Biomedical Agency of Russia, Obolensk, Russian Federation

Федеральное государственное бюджетное учреждение здравоохранения «Медико-санитарная часть №164 Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России) создано в соответствии с приказом Федерального управления медико-биологических и экстремальных проблем при Министерстве здравоохранения Российской Федерации в 1995 г.

Основным направлением работы ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России является медико-санитарное обеспечение деятельности ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, где работают с микроорганизмами I–IV групп патогенности. Кроме основного обслуживаемого контингента, к ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России на медицинское обслуживание прикреплено взрослое и детское население пос. Оболенск в рамках программы ОМС.

Организация лечебно-диагностического процесса в ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России направлена на предупреждение развития профессиональных заболеваний и позволяет в случае выявления таковых своевременно направить заболевшего в ведущие клиники ФМБА России.

Работа ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России осуществляется в соответствии с лицензией на медицинские виды деятельности и лицензией на работу с возбудителями инфекционных заболеваний I–IV групп патогенности.

Сегодня в ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России работают 104 человека, из них 40 врачей и 41 медицинская сестра. Все они высококвалифицированные специалисты, профессионалы своего дела.

В своем составе ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России имеет поликлинику, терапевтический стационар и противочумную станцию.

Проектная мощность поликлиники – 375 посещений в смену. Прием пациентов организован в две смены по пятидневной рабочей неделе.

Сегодня поликлиника предлагает услуги:

- участковой терапевтической и педиатрической служб;
- цеховой службы;
- клинико-диагностической лаборатории;
- рентгенологического кабинета;
- кабинета функциональной диагностики;
- кабинета ультразвуковых исследований;
- кабинета эндоскопии;
- стоматологического отделения;
- физиотерапевтического отделения;
- кабинетов приема врачей-специалистов: невролога, офтальмолога, инфекциониста, оториноларинголога, дерматолога, эндокринолога, пульмонолога, кардиолога, иммунолога, гинеколога.



Мушчак Ирина Петровна,
начальник ФГБУЗ МСЧ №164
ФМБА России, врач-кардиолог
высшей категории, врач-
терапевт высшей категории



Доброхотский Олег Нарьевич,
кандидат медицинских наук,
заместитель начальника
медсанчасти по санитарно-
эпидемиологическим вопросам,
главный врач противочумной
станции

В ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России все диагностические кабинеты оснащены современным оборудованием ведущих мировых фирм.

Клинико-диагностическая лаборатория проводит большой спектр исследований: клинические, биохимические анализы, исследование иммунного, гормонального статуса,

определение онкомаркеров, скрининговые исследования сердечной патологии, цитологические исследования.

Диагностические мощности кабинета ультразвуковых исследований позволяют проводить все виды УЗИ, а также УЗИ беременной женщины и плода.

Кабинет функциональной диагностики оснащен диагностическим оборудованием для скрининга сердечно-сосудистых и бронхолегочных заболеваний, а также патологий нервной системы.

Рентгенологический кабинет оснащен цифровым флюорографом, стационарным рентгенологическим оборудованием, маммографической установкой, стоматологической рентгеноустановкой с радиовизиографом, а также передвижными рентгеновскими комплексами.

Противочумная станция в ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России (далее – ПЧС) была образована по приказу Министра здравоохранения Российской Федерации в августе 1993 г. и имеет в своей структуре санитарно-эпидемиологический отдел и бактериологическую лабораторию.

На базе ПЧС организованы испытательный лабораторный центр и орган инспекции, аккредитованные Федеральной службой по аккредитации.

ПЧС обеспечивает исполнение государственной функции по организации и осуществлению государственного санитарно-эпидемиологического надзора в организациях с особо



Рис. 1. Здание медико-санитарной части №164 Федерального медико-биологического агентства.



Рис. 2. Группа участников IV Научно-практической конференции «Боксы микробиологической безопасности. Рабочая и защитная одежда. Противочумные костюмы. Изолирующие системы» (2018 г.) Крайняя слева – начальник МСЧ №164 И.П.Мушак, крайний справа – ведущий научный сотрудник лаборатории биологической безопасности ФБУН ГНЦ ПМБ к.б.н. Е.А.Тюрин.

опасными условиями труда и на территории пос. Оболенск. Оснащенность необходимыми средствами измерений, вспомогательным и испытательным оборудованием и высокая квалификация персонала позволяют решать задачи, поставленные перед ПЧС в этой области. Высокая квалификация персонала подтверждается тем, что сотрудники имеют сертификаты специалистов, а большинство врачей и специалистов среднего медицинского персонала аттестованы на высшую категорию: в ПЧС работают 2 кандидата медицинских наук. Специалисты ПЧС имеют большой опыт в проведении санитарно-эпидемиологической экспертизы биотехнологических, фармацевтических и парфюмерно-косметических производств, а также проектной документации для их строительства.

На базе ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России создана бригада по борьбе с особо опасными инфекциями, которая находится в постоянной готовности на случай возникновения чрезвычайных ситуаций и участвовала в обеспечении проведения матчей чемпионата мира по футболу в 2018 году в Санкт-Петербурге.

Приоритетным направлением в деятельности ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России является проведение лечебно-профилактических и санитарно-противоэпидемических мероприятий, направленных на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия сотрудников обслуживаемых организаций, работающих с микроорганизмами I–IV групп патогенности, членов их семей, а также на профилактику профессиональной и снижение общей заболеваемости.

Санитарно-эпидемиологическое благополучие обслуживаемого контингента и профилактика инфекционных заболеваний обеспечиваются за счет:

- проведения входных, периодических, предсменных и послесменных медицинских осмотров,
- активного выявления инфекционных больных;
- своевременного выявления больных с особо опасными инфекциями (ООИ);
- постоянной готовности на случай возникновения массовых инфекционных заболеваний, пищевых отравлений;
- лечебно-профилактических и противоэпидемических мероприятий, в том числе лечения больных и подозрительных на заболевания, вызванные микроорганизмами I–II групп патогенности;

- плановых профилактических прививок и определения напряженности иммунитета у сотрудников, работающих с возбудителями ООИ;
- исследований биологического материала от больных для диагностики, лечения;
- проведения профилактических прививок, дезинфекционных мероприятий;
- выявления и установления причин, условий возникновения и распространения профессиональных инфекционных заболеваний путем проведения специальных санитарно-эпидемиологических расследований;
- санитарно-эпидемиологических экспертиз, обследований, исследований, испытаний, измерений, а также гигиенических оценок соответствия с областью аккредитации испытательного лабораторного центра и органа инспекции ПЧС в ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России.

Сотрудничество в научно-практической области между ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России и ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора проявляется не только при выполнении государственного задания ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России, но и при проведении диагностики и лечения инфекций, передающихся иксодовыми клещами, а также при проведении ежегодных межведомственных тактико-специальных учений, в которых отрабатывается взаимодействие по выполнению организационных и противоэпидемических мероприятий при возникновении чрезвычайной ситуации биологического характера.

В ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России успешно работают бывшие сотрудники ГНЦ ПМБ, получившие практический опыт при работе с патогенными биологическими агентами I–IV групп патогенности: заведующая бактериологической лабораторией Борзенкова Т.Х., врач-бактериолог Негрий Н.В., врач-эпидемиолог Лысенко Е.Г., биолог Потапова Е.О., врач клинико-диагностической лаборатории Сурова Е.П., заведующая сан.-эпид. отделом Дианова О.В., старшая мед. сестра ПЧС Шевченко Л.В., фельдшер-лаборант Степанова Г.Н.

Дружная и эффективная работа сотрудников ФГБУЗ МСЧ №164 ФМБА России позволяет обеспечивать на должном уровне оказание медицинской помощи обслуживаемому контингенту, в том числе работающему в опасных условиях труда, а также обеспечивать санитарно-эпидемиологическое благополучие на обслуживаемой территории.

Правила оформления статей (основные положения)

Журнал «Бактериология» публикуется на русском языке (резюме статей и ключевые слова – на русском и английском языках), распространяется на бумажном носителе и публикуется в электронной форме.

К публикации принимаются экспериментальные и обзорные статьи, а также короткие сообщения по прикладным и фундаментальным вопросам медицинской, ветеринарной и сельскохозяйственной бактериологии. Статьи принимаются без ограничения объема от граждан любой страны на русском языке. По согласованию с редакцией допускается публикация рекламных материалов, соответствующих тематике журнала.

Публикации, созданные в порядке выполнения служебного задания, должны иметь направление от учреждения, в котором выполнена работа. В направлении следует указать, что представленный материал ранее не был нигде опубликован и не находится на рассмотрении для публикации в других изданиях (включая зарубежные).

К публикации прилагается экспертное заключение организации об отсутствии ограничений для открытой публикации представленных материалов.

Материалы для публикации, включая сопровождающие документы, направляются в редакцию в электронной форме по адресу: info@obolensk.org или bacteriology@obolensk.org. В теме сообщения следует указать «Бактериология».

Требования к оформлению статьи.

Экспериментальная статья должна состоять из разделов: введение, материалы и методы, результаты и обсуждение, список литературы.

Рукопись должна быть подготовлена в текстовом редакторе MS Word, шрифт – Times New Roman, размер – 14, межстрочный интервал – 1,5, поля – 2 см. Статья должна включать резюме и ключевые слова на русском и английском языках. Нумерация всех страниц рукописи сквозная.

Краткие сообщения представляются без таблиц и рисунков.

Статья должна быть подписана всеми авторами, включая иностранных.

К статье следует приложить сведения об авторах на русском и английском языках с указанием адреса, контактных телефонов (служебного и мобильного), факса и электронной почты с указанием автора, ответственного за переписку с редакцией.

Заглавие статьи оформляется следующим образом:

НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

И. И. Иванов*, П. П. Петров**

*Первая организация, г. Москва, РФ

**Вторая организация, Техас, США

E-mail

[далее текст аннотации и ключевые слова]

Текст статьи, включая резюме, список литературы, подписи к рисункам и таблицы, должны быть оформлены одним файлом, а каждый рисунок – отдельным файлом.

РЕЗЮМЕ статьи должно быть представлено на русском и английском языках, отражать основные полученные результаты и содержать не более 250 слов.

КЛЮЧЕВЫХ СЛОВ (словосочетаний) должно быть не более 10, на русском и английском языках.

Во ВВЕДЕНИИ (без заголовка) следует изложить мотивацию написания данной работы и отдельным абзацем обозначить цель исследования. Дополнительно на английском языке.

Раздел МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ должен содержать сведения об объекте исследования (включая источник получения, название коллекции) и краткое описание использованных методик, позволяющее их воспроизвести (на ранее опубликованные и общеизвестные методы дается ссылка); для приборов и реактивов указываются название фирмы на языке оригинала в кавычках и страны в скобках.

Следует использовать общепринятые современные сокращения мер, физических, химических и математических величин, терминов и т.д. Единицы измерения должны даваться в единицах СИ (Система Интернациональная). Обозначения мутантных и рекомбинантных форм микроорганизмов следует приводить в соответствии с международными правилами. Для трехбуквенного обозначения генов бактерий используются строчные буквы (курсив).

Рисунки и таблицы размещаются в тексте статьи в соответствии с пожеланиями авторов. Кроме того, черно-белые и цветные рисунки (в формате *.jpg) прилагаются к статье в виде отдельных файлов (ris1.jpg, ris2.jpg и т.д.)

Сведения о финансовой поддержке работы приводятся в конце текста статьи перед списком литературы.

В СПИСКЕ ЛИТЕРАТУРЫ указываются авторы, название статьи, название журнала или сборника, год, номер, страницы. Для названия журналов используются общепринятые сокращения (<http://www.nlm.nih.gov/>).

В случае невыполнения настоящих правил оформления статья не принимается и отсылается авторам на доработку.

Редакция оставляет за собой право редактировать статьи по согласованию с автором.

Присланные в редакцию статьи проходят процедуру рецензирования. В случае отклонения статьи редакция направляет автору мотивированный отказ.

Публикация – бесплатная.

Статьи направлять по адресу:

142279, Московская обл.,

Серпуховский р-н, п. Оболенск, ГНЦ ПМБ

Тел. (4967) 36-00-46

Факс (4967) 36-00-10

E-mail: info@obolensk.org

или

bacteriology@obolensk.org