

Сравнительный анализ питательных сред для определения биохимических свойств энтеробактерий

О.В.Полосенко, А.П.Шепелин

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

Этап идентификации микроорганизмов является одним из самых важных и трудоемких этапов проведения бактериологических исследований. На питательных средах при первичном выделении по сочетанию биохимических признаков можно выявить одновременно несколько родов энтеробактерий. Поэтому важным условием эффективности бактериологических исследований по выделению представителей семейства *Enterobacteriaceae* является адекватный выбор и качество питательных сред. Это позволяет определить фенотипические свойства выросших культур микроорганизмов и правильно их идентифицировать. Проведена сравнительная оценка биологических свойств ряда современных питательных сред с целью определения культурально-морфологических и биохимических свойств энтеробактерий.

Ключевые слова: питательные среды, энтеробактерии, фенотипические признаки, биохимические свойства, дифференцирующие свойства, селективность

Для цитирования: Полосенко О.В., Шепелин А.П. Сравнительный анализ питательных сред для определения биохимических свойств энтеробактерий. Бактериология. 2020; 5(1): 41–47. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-41-47

Comparative analysis of nutrient media for determination of the biochemical properties of *Enterobacteria*

O.V.Polosenko, A.P.Shepelin

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

The stage of identification of microorganisms is one of the most important and time-consuming stages of conducting bacteriological studies. On nutrient media with primary isolation by a combination of biochemical characteristics, several genera of enterobacteria can be detected simultaneously. Therefore, an important condition for the effectiveness of bacteriological studies to isolate representatives of the *Enterobacteriaceae* family is an adequate selection and quality of culture media. This allows you to determine the phenotypic properties of the grown cultures of microorganisms and correctly identify them.

A comparative assessment of the biological properties of a number of modern nutrient media was carried out to determine the cultural-morphological and biochemical properties of enterobacteria.

Key words: nutrient media, enterobacteria, phenotypic features, biochemical properties, differentiating properties, selectivity

For citation: Polosenko O.V., Shepelin A.P. Comparative analysis of nutrient media for determination of the biochemical properties of *Enterobacteria*. Bacteriology. 2020; 5(1): 41–47. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2020-1-41-47

Изучение бактериальных культур, причастных к возникновению болезни, начинают с анализа комплекса фенотипических признаков. Результаты исследования фенотипических свойств выделенного микроорганизма служат базой для его родовой и видовой идентификации, а также для решения основного вопроса: играет ли данный микро-

организм этиологическую роль (если он относится к категории патогенных) в диагностируемой инфекции [1].

Важнейшими фенотипическими свойствами, проявляемыми культурой микроорганизма, являются биохимические свойства (наличие ферментов, участвующих в расщеплении белков, углеводов, вызывающих восстановление или окис-

Для корреспонденции:

Полосенко Ольга Вадимовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник сектора микробиологических исследований 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: polosenko@obolensk.org

Статья поступила 03.02.2020 г., принята к печати 27.03.2020 г.

For correspondence:

Olga V. Polosenko, PhD (Biology), leading researcher of the microbiological research department, 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: polosenko@obolensk.org

The article was received 03.02.2020, accepted for publication 27.03.2020

ление различных субстратов), тинкториальные свойства (свойство бактерий вступать в реакцию с красителями и окрашиваться определенным способом), образование колоний на плотных питательных средах.

Различия в ферментном составе используются для дифференциации микроорганизмов, так как они определяют их различные биохимические свойства: сахаролитические (бактерии характеризуются неодинаковой способностью использовать различные углеводы), протеолитические (разложение белков) и другие, выявляемые по конечным продуктам расщепления (образование щелочей, кислот, сероводорода, аммиака и др.).

У бактерий различают три основные группы ферментов. Конститутивные ферменты синтезируются клеткой непрерывно, вне зависимости от наличия субстратов в питательной среде. Индуцибельные (адаптивные) ферменты синтезируются только при наличии в среде субстрата данного фермента. Так, кишечная палочка на среде с глюкозой практически не образует β -галактозидазу, но при добавлении в питательную среду лактозы резко увеличивает синтез этого фермента. Репрессибельные ферменты – синтез которых подавляется в результате избыточного накопления продукта реакции, катализируемой данным ферментом [2].

За последние годы предложены и апробированы эффективные и научно обоснованные методы выделения и идентификации энтеробактерий. Разработаны и внедрены в производство новые диагностические препараты: питательные среды, сыворотки, высокоспецифические диагностикумы, системы для ускоренной идентификации, препараты бактериофагов и другие реагенты.

Тем не менее культуральный метод при идентификации выделенных энтеробактерий по биохимическим свойствам до уровня рода и вида является важным этапом в практической деятельности любой микробиологической лаборатории.

Изучение биохимических свойств непосредственно в лабораториях связано с важными манипуляциями по приготовлению специальных диагностических питательных сред, требующих соблюдения строго заданных условий. Среда должна обязательно содержать быстро усваиваемые вещества, нужные для обеспечения метаболических и энергетических нужд микробов, факторы роста (витамины, аминокислоты), иметь нужную концентрацию водородных ионов (рН), влияющих на транспортные процессы клеточной мембраны и позволяющих клетке усваивать полезные вещества из среды, иметь достаточный окислительно-восстановительный потенциал, и другие вещества, способные поддерживать рост или сохранение жизнеспособности конкретных микроорганизмов. Селективные среды должны содержать в составе ингибиторы, угнетающие рост сопутствующих микроорганизмов (желчь, бриллиантовый/малахитовый зеленый, антибиотики и др.). Дифференцирующие свойства питательных сред создаются внесением субстрата, позволяющим анализировать одну или несколько физиологических/биохимических характеристик микроорганизмов (например, сахаров, аминокислот и др.) с соответствующими индикаторами (фуксин, феноловый красный, бромтимоловый синий и др.).

При микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями в качестве питательных сред для первичного посева в соответствии с исследуемым материалом, как правило, используют: среду Плоскирева, висмут-сульфит агар, с антибиотиками (для выделения шигелл), ЭМС (агар с эозин-метиленовым синим), ЭТ-2 (для выделения эдвардсиелл), Эндо; среды (бульоны) обогащения: магниевую, селенитовый, желчный бульон или среду Рапопорт, глюкозный бульон, буферную (для иерсиний) и др. [3].

Питательные среды, способствующие идентификации или определению биохимических характеристик микроорганизмов, которые проводят после предварительных стадий выделения и/или обогащения, являются подтверждающими средами: среда Клигlera, Олькеницкого, трехсахарный агар и др. [4].

В современной бактериологической практике чаще всего используют сухие питательные среды, которые могут храниться в течение длительного времени, удобны при транспортировке и имеют относительно стандартный состав.

В настоящее время существующий широкий выбор современных питательных сред российского производства позволяет облегчить выделение и идентификацию энтеробактерий из исследуемого материала за счет высокой чувствительности, хороших дифференцирующих, ростовых и ингибирующих свойств сред [5–8].

Цель исследования – сравнительный анализ питательных сред для определения биохимических свойств энтеробактерий.

Материалы и методы

Использованы тест-штаммы энтеробактерий, полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболensk». Биохимические свойства энтеробактерий определялись на питательных средах: лактозный ТТХ агар с тергитолом 7, XLD-агар, ГРМ-бульон, питательная среда № 15 ГРМ для определения индола, трипон-желчный агар (ТЖА), питательная среда с лизином. Специфическая активность питательных сред определялась в соответствии с действующей нормативной документацией. Идентификацию исследуемых тест-штаммов энтеробактерий по биохимическим свойствам проводили согласно МУ 04-723/3 «Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями» [3] и руководствуясь определителем «Bergey's Manual of Systematic Bacteriology» [9].

Результаты и обсуждение

Большое разнообразие родов и видов энтеробактерий создает определенные трудности в работе практических лабораторий при идентификации изолируемых штаммов энтеробактерий и заставляет изучать широкий набор биохимических признаков, их соответствие генотипу. Такие обстоятельства определяют постоянно возрастающие требования к работе бактериологов по выявлению и идентификации многочисленных представителей семейства *Enterobacteriaceae*.

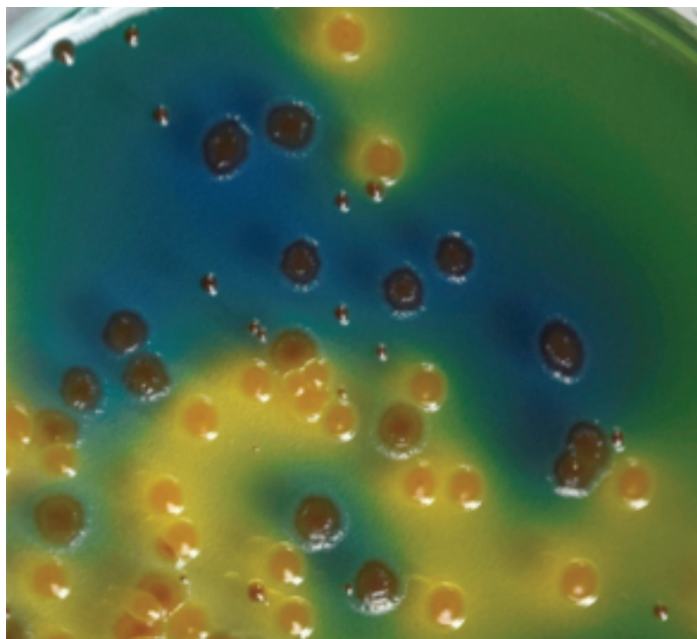


Рис. 1. Рост тест-штаммов *Salmonella typhimurium* 79 (крупные колонии коричневого цвета с посинением среды) + *E. coli* 3912/41 O55:K59 (колонии желтого цвета) + *Shigella flexneri* 1a 8516 (мелкие колонии коричневого цвета с посинением среды).



Рис. 2. Рост тест-штаммов: *Salmonella enteritidis* (черные колонии) + *E. coli* 3912/41 O55:K59 (желтые колонии) + *S. flexneri* 1a 8516 (розовые колонии).

Некоторые бактериологические лаборатории для выделения энтеробактерий традиционно используют классические питательные среды: среды Эндо, Плоскирева, SS-агар, Левина, МакКонки и др., которые являются слабо селективными, и при выделении чистых культур микроорганизмов возникают затруднения из-за присутствия в исследуемых образцах протей, способного к роению. Кроме того, на таких питательных средах при первичной идентификации по сочетанию биохимических признаков можно заподозрить одновременно несколько родов энтеробактерий.

При переходе классических к современным методам исследования большое значение приобретает унификация процедуры выполнения. Важную роль в этом играют: ускорение проведения анализов и улучшение воспроизводимости результатов.

Дифференциальные питательные среды нового поколения: питательная среда для выделения и дифференциации патогенных энтеробактерий (XLD-агар), лактозный ТТХ агар с тергитолом 7, ТЖА, позволяют не только расширить ассортимент сред для выделения энтеробактерий при первичном посеве, но и сократить сроки исследования, а также использовать меньший набор питательных сред при проведении исследований.

Лактозный ТТХ агар с тергитолом 7 используется для обнаружения и учета *Escherichia coli* и колиформных бактерий при проведении бактериологических исследований и обеспечивает рост энтеробактерий, четкую дифференциацию сальмонелл от эшерихий и подавляет рост стафилококков.

Селективность среды обеспечивается гептадецилсульфатом натрия (Тергитол-7) и 2,3,5-трифенилтетразолиум хлоридом (ТТХ), подавляющим большинство грамположительных бактерий. ТТХ играет роль также и дифференцирующего вещества, поскольку лактозоотрицательные бактерии

восстанавливают ТТХ, окрашиваясь в коричневый цвет. Изменяя pH в кислую сторону, лактозоферментирующие бактерии при росте образуют на среде колонии желтого или желто-оранжевого цвета с желтой зоной вокруг колоний. Такие ярко выраженные дифференцирующие свойства среды позволяют идентифицировать микроорганизмы уже на этапе первичного посева (рис. 1).

Для выделения шигелл бактериологическими лабораториями используются питательные среды с антибиотиками. Среда готовится путем добавления соответствующих препаратов антибиотиков к среде Плоскирева или ЭМС-агару (агар с эозин-метиленовым синим) [3].

Питательная среда XLD-агар позволяет одновременно выделять и дифференцировать патогенные энтеробактерии, в частности, сальмонеллы и шигеллы. Дифференцирующие свойства среды основаны на понижении pH среды в кислую сторону при росте ферментирующих углеводов бактерий, которые образуют на XLD-агаре беловато-желтые колонии, окруженные желтой зоной. Бактерии, декарбоксилирующие лизин с образованием кадаверина, обнаруживаются по пурпурному окрашиванию среды вокруг колоний вследствие повышения pH среды. Бактерии, продуцирующие в процессе роста на XLD-агаре сероводород, образуют колонии с черным центром. Образование черного цвета происходит в процессе химической реакции солей железа, входящих в состав среды, с сероводородом и образованием в результате реакции сульфида железа черного цвета (рис. 2).

Отобранные для дальнейшего изучения колонии пересевают в одну из сред для первичной идентификации.

Идентификация энтеробактерий включает три этапа: а) первичную идентификацию; б) установление рода (дифференциацию родов) и в) идентификацию вида и внутривидовую дифференциацию.

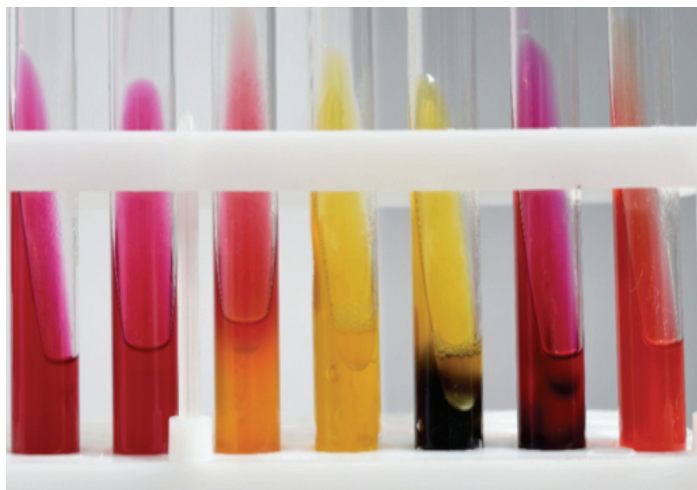


Рис. 3. Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной: слева направо: рост тест-штаммов *Yersinia enterocolitica* 287 II, *Yersinia pseudotuberculosis* III, *Shigella sonnei* «S form», *E. coli* 3912/41 (055: K59), *Citrobacter freundii* 101/57, *Proteus vulgaris* HX 19 222, контроль (незасеянная среда).

Выполнение первого этапа предусматривает определение биохимических признаков изучаемой культуры с использованием сред для первичной идентификации (комбинированных сред), а при необходимости и тестов для дифференциации энтеробактерий от других грамотрицательных бактерий. На втором этапе применяют тесты минимального дифференцирующего ряда в наборе, необходимом для установления рода (дифференциации от сходных родов), а также вида у тех родов энтеробактерий, которые представлены единственным видом. Третий этап идентификации предполагает использование дополнительных биохимических тестов для внутривидовой дифференциации – определение видов, внутривидовую дифференциацию, а при необходимости и наличии соответствующих коммерческих диагностических сывороток и серологическую внутривидовую дифференциацию [3].

Комбинированные среды – Олькеницкого или Клиглера – используются для дальнейшего изучения выделенной чистой культуры и одновременного выявления ряда признаков, важных для определения семейства, рода или некоторых видов энтеробактерий по способности образовывать сероводород и отношению к глюкозе, лактозе (а также сахарозе и мочеине – на среде Олькеницкого). Посев материала из колонии на комбинированную среду проводят бактериологической петлей вначале по скошенной части штрихом и заканчивают уколком в толщу агарового столбика, не достигая дна пробирки. Посевы инкубируют при 37°C в течение 18–20 ч, а при целенаправленных исследованиях на иерсинии – в течение того же времени, но при 22–25°C.

О ферментации лактозы (и сахарозы) в среде Олькеницкого и ферментации лактозы в среде Клиглера судят по появлению желтой окраски в скошенной части агара, а о ферментации глюкозы – в столбике. Газообразование устанавливают по появлению пузырьков, разрывам агара, образованию сероводорода – по почернению среды обычно в средней части столбика, при значительной продукции можно наблюдать почернение всей среды. В среде Олькеницкого при росте культуры, гидролизующей мочеину,

происходит подщелачивание, вследствие чего среда приобретает диффузный яркий красно-малиновый цвет. В этом случае учет ферментации углеводов невозможен. При интенсивном образовании сероводорода, когда чернеет целиком вся среда, учет ферментации углеводов в средах Клиглера и Олькеницкого затруднен. Однако образование сероводорода может происходить лишь в кислой среде, которая создается за счет ферментации глюкозы, присущей всем энтеробактериям. Используя среду Клиглера, можно ориентировочно определить у исследуемой культуры способность к индолообразованию с помощью индикаторной полоски.

Железо-глюкозо-лактозный агар с мочевиной является модифицированным аналогом среды Олькеницкого и предназначен для первичной идентификации энтеробактерий по их способности утилизировать мочеину, ферментировать лактозу, глюкозу, образовывать газ и сероводород. В составе среды отсутствует сахароза, так как уразоположительные и сахарозоположительные культуры могут давать на подобных средах с сахарозой ложную реакцию на определение утилизации мочеины. На рисунке 3 представлен рост тест-штаммов на железо-глюкозо-лактозном агаре с мочевиной с соответствующими биохимическими характеристиками.

По совокупности биохимических свойств, выявленных на комбинированных средах, делают предположительное заключение о возможной родовой принадлежности культуры. Для установления родовой принадлежности изучаемой культуры следует провести дифференциацию родов, т.е. использовать соответствующие тесты из минимального дифференцирующего ряда. Конкретный набор тестов определяют с учетом родов, подлежащих дифференциации. При затруднениях в дифференциации прибегают к определению дополнительных признаков у изучаемой культуры, используя данные о биохимических характеристиках родовых групп семейства *Enterobacteriaceae*.

Тест на образование индола (тест на триптофаназу) основан на том, что в процессе размножения микроорганизмов содержащийся в питательной среде триптофан расщепляется с образованием индола. Индолообразование определяют путем добавления реактивов Эрлиха или Ковача к культуре, выращенной в безуглеродной среде – пептонной воде (1–2%), бульоне Хоттингера, бульоне на триптическом переваре казеина.

Безусловным является тот факт, что наиболее интересна и востребована питательная среда, состав которой в совокупности с условиями культивирования определяет множественность выполняемых ею функций. Так, ГРМ-бульон предназначен для культивирования различных микроорганизмов, непритворливых по своим питательным потребностям, таких как энтеробактерии, синегнойная палочка, стафилококки. Помимо своих питательных особенностей, ГРМ-бульон обеспечивает образование сероводорода тест-штаммом *Salmonella typhi* H-901 ГДР/ГИСК и индола – тест-штаммом *S. flexneri* 1a 8516. При положительной реакции на индол бумажки, пропитанные модифицированным реактивом Эрлиха (пара-диметиламинобензальдегид – 4 г; спирт этиловый – 50 мл; кислота ортофосфорная – 10 мл), окрашиваются в розовый цвет (рис. 4а).

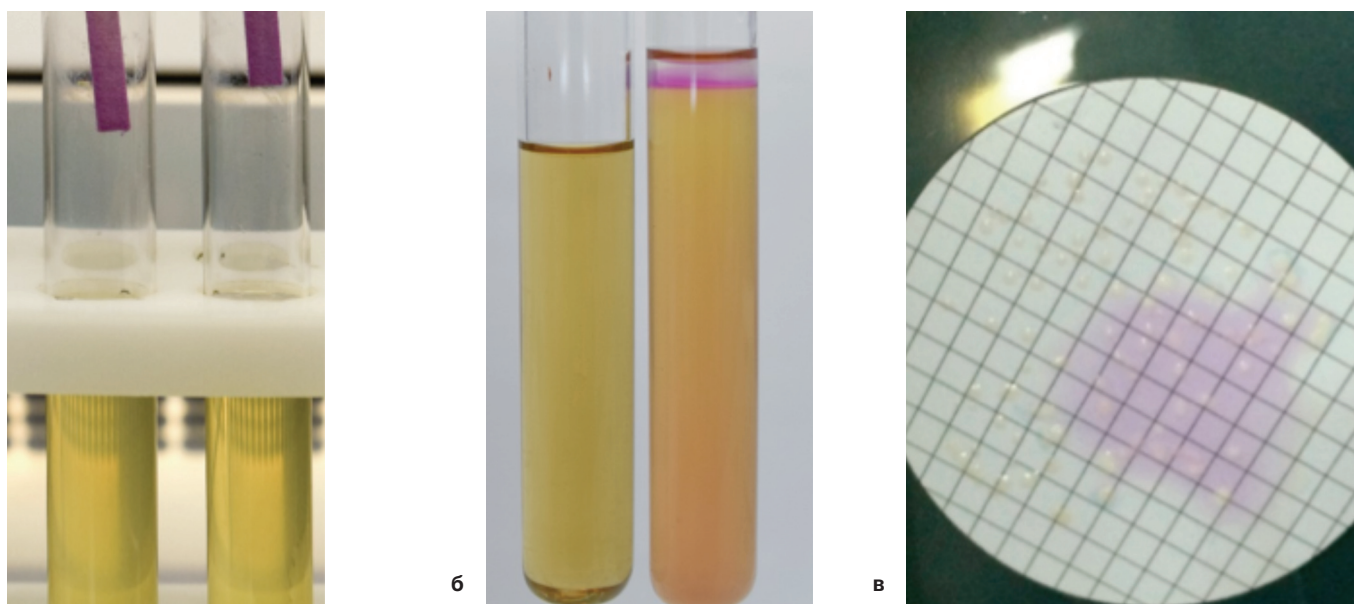


Рис. 4. Тестирование на индол. а – рост тест-штамма *S. flexneri* 1a 8516 на ГРМ-бульоне; б – рост *E. coli* ATCC 25922 на питательной среде № 15 ГРМ; в – рост тест-штамма *E. coli* ATCC 25922 на ТЖА.

Классическим методом бактериологии является идентификация микроорганизма в виде чистой культуры. Примером питательной среды для дифференциации выделенных микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae* по их способности к образованию индола является питательная среда № 15 ГРМ. При росте *E. coli* ATCC 25922 образуется индол, который определяется по появлению окрашивания от розового до ярко-красного после внесения в пробирки с культурами реактива Ковача или Эрлиха (рис. 4б).

К числу новых сред, предназначенных для проведения бактериологических исследований клинического и другого материала с целью получения дополнительной информации о состоянии и клинической ситуации при диагностике заболеваний, вызванных энтеробактериями, относится триптон-желчный агар. Принцип действия основан на определении способности энтеробактерий расти в присутствии больших концентраций желчи (желчных кислот). Кроме того, на среде также проводят тестирование на индол. Выросшие при температуре инкубации 43°C колиформные бактерии образуют красные колонии при окрашивании реактивом на индол (реактив Ковача) (рис. 4с). Рост других тест-штаммов, не относимых к эшерихиям, но продуцирующих индол, при температуре инкубации 43°C отсутствует, поскольку при повышенной температуре инкубации в присутствии желчных солей рост этих тест-штаммов подавляется, что значительно облегчает работу по выявлению эшерихий.

Для определения декарбоксилаз энтеробактерий используют жидкие и полужидкие питательные среды, содержащие лизин и индикаторы (бромкрезоловый пурпурный, бромтимоловый синий).

При положительном результате (утилизация лизина) определяются биохимические характеристики в виде диффузного помутнения среды с изменением цвета среды с зеленого на синий. На рисунке 5 представлена питательная среда для определения лизиндекарбоксилазы, содержащая

в своем составе индикатор бромтимоловый синий. Культуры микроорганизмов, не продуцирующие фермент декарбоксилазу и утилизирующие глюкозу, растут в виде диффузного помутнения среды с изменением цвета среды с зеленого на желтый. Питательная среда может использоваться и для дифференциации *S. Typhi* от *S. Paratyphi A*, поскольку отличительной особенностью *S. Paratyphi A* является неспособность декарбоксиллировать лизин.

Идентификация видов и внутривидовая дифференциация энтеробактерий составляет заключительный этап бактериологического исследования различных материалов. В большинстве случаев идентификация видов энтеробактерий предусматривает применение дополнительных к использованному на предыдущем этапе (определения рода)



Рис. 5. Слева направо. Рост тест-штаммов: *Klebsiella pneumoniae* 418, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi* 65, *S. sonnei* «S form», *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Paratyphi A-225*, контроль (незасеянная среда с лизином).

биохимических тестов из минимального дифференцирующего ряда. Для обнаружения сахаролитических ферментов выделенной культуры используют ассортимент питательных сред Гисса. Изменения реакции среды, наступающие в результате деятельности ферментных систем микробов, выражаются в изменении цвета среды после 24 ч культивирования посевов. Отрицательная реакция при росте микроорганизмов не сопровождается изменением цвета среды и газообразованием.

В связи с общностью некоторых биохимических (ферментативных) и культуральных свойств целесообразно выделять основные признаки, по совокупности которых можно четко дифференцировать представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Для корректной внутривидовой и внутривидовой дифференциации энтеробактерий важно использовать комплекс тестов, позволяющих повысить специфичность метода за счет расширения диапазона определяемых биохимических свойств.

Заключение

При выделении энтеробактерий в практической деятельности некоторых микробиологических лабораторий используют классические слабоселективные питательные среды, такие как Эндо, Плоскирева, Левина и некоторые другие, при использовании которых дифференциация может быть осложнена ростом сопутствующей микрофлоры (роящиеся формы протеев, псевдомонады).

В последнее время появилась тенденция к использованию новых питательных сред, позволяющих идентифицировать широкий спектр энтеробактерий, принадлежащих к разным родам. Использование таких сред позволяет оценить спектр патогенов в пробе и их относительное количество.

Сравнительная оценка качества высокоселективных и многокомпонентных питательных сред: XLD-агара, лактозного ТТХ агара с тергитолом 7, по биологическим показателям показала преимущество по сравнению с традиционными средами по дифференцирующим свойствам, так как эти среды позволяют одновременно выделять и дифференцировать сальмонеллы, шигеллы и эшерихии в один этап. Кроме того, высокие интенсивность, яркость и специфичность цветов искомых колоний на таких средах существенно упрощают подсчет микроорганизмов.

При использовании комбинированных сред, таких как железо-глюкозолактозный агар с мочевиной, возможен учет нескольких признаков, характеризующих выделенную культуру, что позволяет значительно сузить диапазон подозреваемых родовых групп.

Сравнительная оценка питательных сред, используемых для определения индола, на индол-положительных тест-штаммах показала полное соответствие назначению каждой из этих питательных сред и преимущество ТЖА, использование которого позволяет не только визуально определить наличие в исследуемом образце термотолерантных колиформных бактерий, но и одновременно проводить тест на индол.

Применение современных питательных сред дает возможность определения не только внутривидовой дифференциации энтеробактерий, но и внутривидовой.

Правильный выбор среди разнообразия питательных сред будет способствовать повышению объективности получаемых результатов, а в отдельных случаях может стать определяющим фактором в принятии решения при микробиологической диагностике.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Руководство по медицинской микробиологии. Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций. Книга II. Под редакцией Лабинской АС, Костюковой НН, Ивановой СМ. М.: Изд. Бинум, 2012, с. 994–995.
2. Химия и химическая технология. Справочник химика 21. Доступно по: <https://www.ru-ecology.info/info/104811>
3. МУ 04-723/3 Методические указания по микробиологической диагностике заболеваний, вызываемых энтеробактериями.
4. ГОСТ ISO 11133-2016 Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред. М.: Стандартинформ; 2016, 90 с.
5. Микробиологический контроль качества пищевой продукции. Коллективная монография под ред. д.м.н., профессора А.Ю.Поповой и академика РАН И.А.Дятлова. 2020, с. 368-77.
6. Шепелин, АП, Дятлов ИА. Питательные среды для энтеробактерий. Монография. М.: Изд. Династия; 2017, 231 с.
7. Полосенко ОВ, Марчихина ИИ, Шолохова ЛП, Мартовецкий МН, Храмов МВ. Разработка и использование новой питательной среды для выявления и идентификации санитарно-показательных микроорганизмов. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2008;6:70-2.
8. Шепелин АП, Полосенко ОВ, Марчихина ИИ, Шолохова ЛП, Ажармачева НИ, Ершова МГ, Полетаева ЕД. Клинические испытания питательных сред для накопления сальмонелл. Клиническая лабораторная диагностика. 2018;63(9): 557-63. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-9-557-563
9. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition, Volume 2, Dordrecht: Springer-Verlag New York Inc., 2006, P. 587-848.

References

1. Medical Microbiology. Private medical microbiology and etiological diagnostics of infections. Book II. Edited by Labinskaya AS, Kostyukova NN, Ivanova SM. Moscow: "Binom" Publ., 2012, pp. 994–995. (In Russian).
2. Chemistry and chemical technology. Available at: <https://www.ru-ecology.info/info/104811> (In Russian).
3. MU 04-723/3 Guidelines for the microbiological diagnosis of diseases caused by enterobacteria. (In Russian).
4. GOST ISO 11133-2016 Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and determination of working characteristics of nutrient media. Moscow: "Standartinform" Publ., 2016, 90 p. (In Russian).
5. Microbiological quality control of food products. Edited by A.Yu.Popova, I.A.Dyatlov. 2020, pp. 368-77. (In Russian).

6. Shepelin, AP, Dyatlov IA. Nutrient media for enterobacteria. Moscow: "Dinastiya" Publ., 2017, 231 p. (In Russian).
7. Polosenko OV, Marchikhina II, Sholokhova LP, Martovetsky MN, Khramov MV. Development and use of a new growth medium for detection and identification of sanitary-indicative microorganisms. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. 2008;6:70-2. (In Russian).
8. Shepelin AP, Polosenko OV, Marchikhina II, Sholokhova LP, Azhermacheva NI, Ershova MG, Poletaeva ED. Clinical trials of salmonella enrichment medium. Russian Clinical Laboratory Diagnostics (Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika). 2018;63(9):557-63. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-9-557-563 (In Russian).
9. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition, Volume 2, Dordrecht: Springer-Verlag New York Inc., 2006, P. 587-848.

Информация об авторе:

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

Information about author:

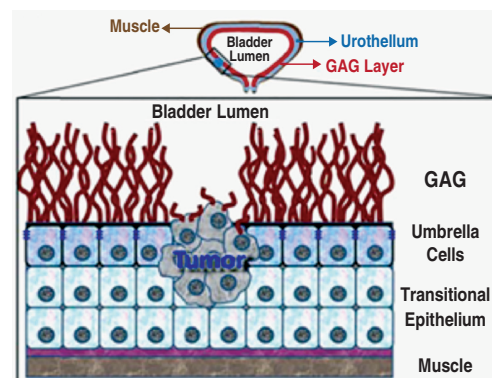
Anatoly P. Shepelin, PhD, DSc (Biology), deputy director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор
 Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
 Phone: (4967) 36-0020
 E-mail: shepelin@obolensk.org

НОВОСТИ НАУКИ**Использование сибирской язвы для борьбы с раком**

Ученые недавно опробовали метод, который использует сибирскую язву для борьбы с раком мочевого пузыря. Подход был успешным в экспериментах с использованием тканей человека и животных. Они надеются, что в будущем это может помочь в лечении ряда раковых заболеваний.

По данным Центров по контролю и профилактике заболеваний (CDC), в Соединенных Штатах ежегодно рак мочевого пузыря развивается у 74 000 человек, и около 17 000 умирают от этой болезни. Кроме того, рак мочевого пузыря часто развивается повторно после его удаления. Стандартные методы лечения рака мочевого пузыря инвазивны и требуют много времени. Лицо, проходящее курс лечения, должно сидеть не менее 2 часов с мочевым пузырем, полным противораковых средств. Для этой процедуры врачи чаще всего используют препараты митомицин С и Bacillus Calmette – Guérin (BCG). Побочные эффекты лечения включают мочевые симптомы, лихорадку, воспалительную реакцию и цистит. Кроме того, BCG в настоящее время в дефиците.

Разработка более эффективных подходов против рака мочевого пузыря является приоритетной задачей. Соответственно, эта работа обеспечивает основу для стратегии противоопухолевой трансформации, которая использует уникальные характеристики мочевого пузыря. В отличие от нормальных клеток мочевого пузыря, экранированных муцином, раковые клетки подвергаются воздействию просвета мочевого пузыря и чрезмерно экспрессируют рецептор эпидермального фактора роста (EGFR). EGF-конъюгированный токсин сибирской язвы, который после достижения EGFR был усваивался и вызвал апоптоз в открытых клетках рака мочевого пузыря. В отличие от известных агентов, этот конъюгат EGF-токсин способствовал собственному поглощению посредством микрокластеризации рецепторов даже в присутствии Her2 и вызывал гибель клеток с LC50 <1 нМ. Воздействия в течение 3 минут было достаточно, чтобы вызвать апоптоз клеток рака человека (T24), мыши (MB49) и собаки (первичный) мочевого пузыря. Воздействие этого препарата на мышей и собак без опухолей не привело к токсичности. Кроме того, EGF-токсин был способен удалять клетки из образцов опухоли пациента. Важно отметить, что введение EGF-токсина собакам со спонтанным раком мочевого пузыря, которые не смогли или не имели права на другие виды лечения, привело в среднем к уменьшению опухоли на 30% после одного цикла лечения. Из-за его высокой эффективности *in vitro* и *in vivo*, быстрого действия (сокращающего время лечения с нескольких часов до минут) и безопасности предлагается, что этот конъюгат EGF-токсин сибирской язвы послужит основой для новых трансформирующих подходов против рака мочевого пузыря.



Jack S. et al.

A novel, safe, fast and efficient treatment for Her2-positive and negative bladder cancer utilizing an EGF-anthrax toxin chimera
Int J Cancer. 2020;146(2):449–460.