

Изучение ростовых свойств питательных сред и валидация методов по выделению бактерий родов *Proteus* и *Providencia* из кормов для животных

А.А.Кремлева¹, О.В.Полосенко²

¹ФГБУ ВНИИЗЖ «Федеральный центр охраны здоровья животных», Москва, Российская Федерация;

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

Высокая концентрация бактерий родов *Proteus* и *Providencia* в кишечнике животных является негативным фактором, который способен снизить устойчивость организма к развитию патологий желудочно-кишечного тракта. В этой связи при санитарно-гигиенической оценке кормов для животных определение протеев является обязательным.

Для проведения валидационных процедур в ветеринарных лабораториях были изучены биологические показатели качества плотных и жидких (накопительных) питательных сред разных производителей при изучении изолятов бактерий родов *Proteus* и *Providencia*, выделенных из кормов для животных.

Было установлено, что использование селективной питательной среды с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* предпочтительнее для получения адекватного результата при росте уреазоположительных протеев.

Ключевые слова: питательные среды, бактерии родов *Proteus* и *Providencia*, валидация

Для цитирования: Кремлева А.А., Полосенко О.В. Изучение ростовых свойств питательных сред и валидация методов по выделению бактерий родов *Proteus* и *Providencia* из кормов для животных. Бактериология. 2023; 8(1): 37–42. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-1-37-42

Studying the growth properties of nutrient media and validation of methods for isolation of *Proteus* and *Providencia* bacteria from animal feed

A.A.Kremleva¹, O.V.Polosenko²

¹Federal Centre for Animal Health (FGBI "ARRIAH"), Moscow, Russian Federation;

²State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Russian Federation

A high concentration of bacteria of the genera *Proteus* and *Providencia* in the intestines of animals is a negative factor that can reduce the organism's resistance to the development of pathologies of the gastrointestinal tract. In this regard, the determination of *Proteus* is mandatory in the sanitary and hygienic assessment of animal feed.

To carry out validation procedures in veterinary laboratories, biological indicators of the quality of solid and liquid (accumulative) nutrient media from different manufacturers have been studied when studying isolates of bacteria of the *Proteus* and *Providencia* genera isolated from animal feed.

It was found that the use of a selective nutrient medium with mannitol, bile and polymyxin to detect bacteria of the genera *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* is preferable to obtain an adequate result in the growth of urease-positive proteas.

Key words: culture media, *Proteus*, *Providencia*, validation

For citation: Kremleva A.A., Polosenko O.V. Studying the growth properties of nutrient media and validation of methods for isolation of *Proteus* and *Providencia* bacteria from animal feed. Bacteriology. 2023; 8(1): 37–42. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2023-1-37-42

Для корреспонденции:

Кремлёва Анна Александровна, научный сотрудник
ФГБУ ВНИИЗЖ «Федеральный центр охраны здоровья животных»

Адрес: 111622, Москва, ул. Оранжерейная, 23

Телефон: (495) 700-0137

Статья поступила 20.03.2023, принята к печати 28.04.2023

For correspondence:

Anna A. Kremleva, Researcher, Federal Centre for Animal Health
(FGBI "ARRIAH")

Address: 23 Oranzhereynaya str., Moscow, 111622, Russian Federation

Phone: (495) 700-0137

The article was received 20.03.2023, accepted for publication 28.04.2023

Высокое содержание бактерий рода *Proteus* в организме сельскохозяйственных животных отрицательно сказывается на их здоровье, вызывая трудно поддающиеся лечению желудочно-кишечные заболевания. Попав в организм, протеи быстро колонизируют его, а инфицирование «роящимися» штаммами проявляется стремительным ростом инфекции [13].

Наиболее часто выделяемыми и патогенными для животных являются представители *P. vulgaris* и *P. mirabilis*, которые участвуют в этиопатогенезе кишечных расстройств у молодняка.

Бактерии рода *Providencia* широко распространены в природе, их выделяют из воды, почвы, фекалий и мочи животных и человека. Встречаются патогенные варианты, способные вызывать желудочно-кишечные заболевания у молодняка животных [4].

Как санитарно-показательные микроорганизмы, протеи вместе с бактериями группы кишечной палочки, энтерококками, сульфитредуцирующими клостридиями, колифагами применяются для санитарно-гигиенической оценки кормов для животных, почвы, воды открытых водоемов [5].

Нормативный документ «Методика индикации бактерий рода «Протеус» в кормах животного происхождения 1981 г.» регламентирует использование устаревших методик и питательных сред, поэтому назрела необходимость в проведении валидационных процедур для получения объективной оценки степени контаминации протеями исследуемых объектов [6]. Актуальность совершенствования методов исследования материала для выделения бактерий родов *Proteus* и *Providencia* в ветеринарной практике связана с появлением новых питательных сред, обладающих хорошими дифференциально-диагностическими и селективными свойствами.

В ветеринарных лабораториях, лабораториях мясокомбинатов, а также в диагностических лабораториях при исследовании объектов внешней среды и кормов при обнаружении протеев используется метод Шукевича с использованием свежескошенного мясопептонного агара (МПА). При наличии «ползучего» вуалеобразного роста на МПА определяют титр по наименьшему количеству засеянного материала, в котором обнаружен рост бактерий рода *Proteus* [6].

Для получения чистой культуры первичный посев исследуемого материала производят на поверхность селективных дифференциально-диагностических питательных сред. На средах Плоскирева и Эндо представители *P. vulgaris* и *P. mirabilis* могут давать вуалеобразный рост (роение). Нероящиеся представители рода протеев обычно образуют более «нежные» колонии небольших размеров. На питательной среде для выделения сальмонелл и шигелл (SS-агар) нередко обнаруживается очаговое роение протеев. Представители *P. vulgaris* на висмут-сульфит-агаре растут в виде колоний светло-зеленого цвета, что может привести к ложноположительным результатам при росте сальмонелл, не продуцирующих сероводород. Питательная среда для селективного выделения и учета всех видов энтеробактерий (агар Мосселя) подавляет роение протеев, но при этом их дифференциация от других представителей энтеробактерий затруднена из-за схожих морфологических признаков.

В последнее время появилась тенденция к использованию новых питательных сред, позволяющих выделять широ-

кий спектр энтеробактерий, принадлежащих к разным родам. Ксилозо-лизиновый дезоксихолатный агар (XLD-агар) обеспечивает дифференциацию протеев от эшерихий, сальмонелл, шигелл и других представителей энтеробактерий [7–11].

Тем не менее в ветеринарных лабораториях при выделении бактерий родов *Proteus* и *Providencia* из кормов для животных удобнее использовать высокоселективные питательные среды, позволяющие выявить на ранних стадиях наличие монокультуры в пробе и оценить ее относительное количество.

Применение валидационных процессов позволит выбрать из общего числа современных питательных бульонов (накопительных) и плотных питательных сред те варианты, которые будут предпочтительнее при низкой нагруженности патогеном образцов.

Цель исследования – сравнительная оценка ростовых свойств питательных сред и валидация методов по выделению бактерий родов *Proteus* и *Providencia* из искусственно контаминированных кормов и кормовых ингредиентов.

Материалы и методы

В работе использовались питательные среды:

селективные накопительные бульоны

- селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* (ФБУН ГНЦ ПМБ),
 - селективная среда для определения бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* (НПЦ «Биокомпас-С»);
- плотные питательные среды*

- дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*» (ФБУН ГНЦ ПМБ);
- дифференциально-диагностический агар (НПЦ «Биокомпас-С»);
- МПА (ФБУН ГНЦ ПМБ) (для посева по методу Шукевича);
- триптон-соевый агар (ТСА) (ФБУН ГНЦ ПМБ) (для контроля посевной дозы нецелевых штаммов);
- питательная среда для выделения и дифференциации патогенных энтеробактерий (XLD-агар) (ФБУН ГНЦ ПМБ) (в качестве среды сравнения и при подсчете целевых штаммов).

В сравнительных исследованиях учитывались чувствительность, дифференцирующие и ингибирующие свойства питательных сред.

В процессе валидационных мероприятий оценивали следующие критерии: специфичность, повторяемость, устойчивость (определение при температурах культивирования 36°C; 36,5°C; 37°C; 37,5°C; 38°C), предел обнаружения, промежуточная прецизионность метода с использованием селективного обогащения.

Для оценки ростовых свойств питательных сред и валидационных мероприятий были использованы целевые штаммы – изоляты бактерий рода *Proteus* (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*) и *Providencia rettgeri*, выделенные из кормов для животных.

Для проведения валидации метода готовили 45 проб матрицы (премикс, мука мясокостная), зараженных *P. mirabilis*, *P. vulgaris* и *P. rettgeri* в количестве 1–10, 10–100 и 100–1000,

1000–10000 КОЕ и 6 проб матрицы (премикс, мука мясокостная и сухой корм для непродуктивных животных), зараженной нецелевыми штаммами: *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922 DSM 1103, *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Enteritidis* ATCC 13076 DSM 17420 в количестве 10^4 КОЕ. Нецелевые штаммы получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболенск).

Суспензии готовили в 0,9%-м растворе хлорида натрия в концентрации, соответствующей 10 единицам по стандартному образцу мутности (СОС 42-28-59-86П), соответствующего года выпуска (ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ). Для получения суспензии с нужной концентрацией тестового микроорганизма выполняли серийные разведения полученной стандартной суспензии методом десятикратных разведений [12, 13].

Стерильные пробы матрицы массой 10 и 50 г контаминировали целевыми штаммами, используя разведения 10^{-8} ($1-10$ КОЕ), 10^{-7} ($10-100$ КОЕ), 10^{-6} (10^2-10^3 КОЕ) в 1 мл и нецелевыми штаммами, используя разведения 10^{-4} (10^4-10^5 КОЕ) в 1 мл. Суспензию вносили при комнатной температуре, ее масса (объем) соответствовала величине норматива при соотношении навески продукта и физиологического раствора 1:9.

Для биохимического подтверждения принадлежности выделенных колоний к бактериям родов *Proteus* и *Providencia* использовали альтернативные (коммерческие) наборы для видовой идентификации API 20E.

Результаты и обсуждение

Стерильные пробы матриц, контаминированные целевыми и нецелевыми штаммами в соответствующих разведениях, выдерживали при комнатной температуре 4 ч. Из исходного разведения корма высевали по 0,5 мл в 4,5 мл накопительных бульонов и в конденсационную воду со свежескошенным питательным агаром. Посевы инкубировали при $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Предварительный учет результатов проводили через 24 ч, окончательный – через 48 ч инкубации.

Положительными считали пробирки, в которых наблюдалось помутнение и/или изменение цвета среды. Селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* показала преимущество, так как при росте уреазоположительных бактерий, расщепляющих мочевины, наблюдалось изменение цвета среды в синий (рисунок).

Для подтверждения присутствия бактерий родов *Proteus* и/или *Providencia* из всех пробирок, в которых наблюдалось помутнение среды и/или изменение цвета, делали пересевы на каждую плотную дифференциально-диагностическую среду таким образом, чтобы получить рост изолированных колоний. Инкубировали посевы при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение 20 ч.

Отмечали подозрительные колонии на принадлежность к родам *Proteus* и *Providencia* с каждой чашки. Выбирали для идентификации не менее 3 подозрительных колоний с дифференциально-диагностических сред со следующими признаками роста: гладкие, полупрозрачные колонии розового

цвета, предположительно относящиеся к бактериям рода *Providencia*, полупрозрачные желтоватые колонии со слабым пожелтением среды, предположительно относящиеся к бактериям вида *P. vulgaris*, и гладкие, полупрозрачные, с темным центром, предположительно относящиеся к бактериям вида *P. mirabilis*.

На питательной среде XLD-агар были отмечены колонии разной морфологии: ярко-желтые непрозрачные колонии, предположительно относящиеся к эшерихиям; бесцветные колонии с неярко-выраженным темным центром, предположительно относящиеся к протеем; блестящие, бесцветные с черным центром, предположительно относящиеся к сальмонеллам.

В дальнейшем проводили биохимическую типизацию выделенных колоний со всех плотных питательных сред с использованием коммерческих наборов для видовой идентификации API 20E.

Таким образом, с помощью питательных сред «Дифференциально-диагностическая питательная среда для выделения бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*» и «Дифференциально-диагностический агар» были выделены бактерии родов *Proteus* и *Providencia*, а система индикации сероводорода, присутствующая в составе этих сред, позволила дифференцировать изоляты между собой по почернению колоний. Обе среды показали хорошие ингибирующие свойства по отношению к нецелевым штаммам: рост штаммов *E. coli*, *S. Enteritidis*, *E. faecalis* и *B. cereus* отсутствовал.

XLD-агар по ростовым свойствам показал сравнимые результаты с вышеуказанными питательными средами, но, поскольку он является средой, обеспечивающей рост не только протеев, но и других представителей энтеробактерий, его использование в ветлабораториях при выделении протеев нецелесообразно, особенно при исследовании материала, высококонтаминированного сопутствующей микрофлорой.

На следующем этапе исследований были проведены валидационные мероприятия, в ходе которых с использовани-

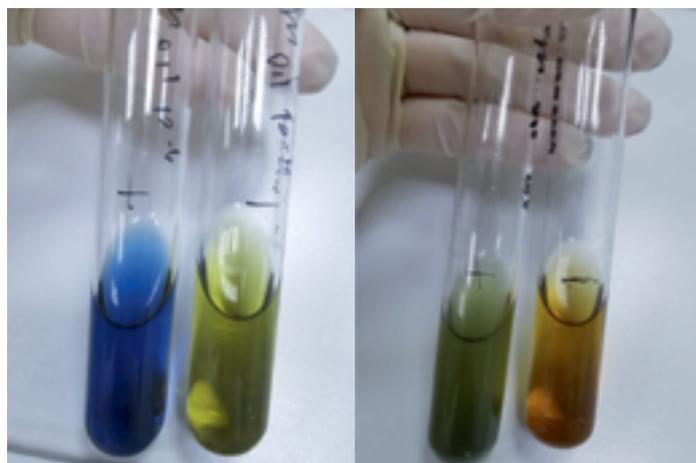


Рисунок. Рост бактерий на селективных средах: слева – селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* (ФБУН ГНЦ ПМБ); справа – селективная среда для определения бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* (НПЦ «Биокомпас-С»).

Таблица 1. Результаты валидационных мероприятий по определению предела обнаружения в кормах бактерий родов *Proteus* и *Providencia* при использовании селективных накопительных бульонов

Наименование питательной среды	Разведение (кол-во КОЕ в 10/50 г корма)			
	10 ⁻⁵ 1000 КОЕ	10 ⁻⁶ 100–1000 КОЕ	10 ⁻⁷ 10–100 КОЕ	10 ⁻⁸ 1–10 КОЕ
<i>Proteus mirabilis</i>				
Селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>	+/+	+/+	+/+	-/-
Селективная среда для определения бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>	+/+	+/+	+/+	-/-
МПА по Шукевичу	+/+	+/+	-/-	-/-
Контроль посевной дозы на XLD-агаре	Более 300	201	19	2
<i>Proteus vulgaris</i>				
Селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>	+/+	+/+	+/+	-/-
Селективная среда для определения бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>	+/+	+/+	+/-	-/-
МПА по Шукевичу	+/+	+/+	-/-	-/-
Контроль посевной дозы на XLD-агаре	Более 300	173	16	1
<i>Providencia rettgeri</i>				
Селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>	+	+	+	-
Селективная среда для определения бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>	+	+	+	-
МПА по Шукевичу	+	+	-	-
Контроль посевной дозы на XLD-агаре	Более 300	120	11	1

«+» – наличие роста; «-» – отсутствие роста.

Таблица 2. Результаты валидационных мероприятий по определению специфичности метода обнаружения в кормах бактерий родов *Proteus* и *Providencia* при использовании накопительных питательных сред

Наименование питательной среды	Разведение (кол-во КОЕ в 10 г корма)						
	10 ⁻⁴ <i>P. rettgeri</i>	10 ⁻⁴ <i>P. vulgaris</i>	10 ⁻⁴ <i>P. mirabilis</i>	10 ⁻⁴ <i>E. faecalis</i>	10 ⁻⁴ <i>S. Enteritidis</i>	10 ⁻⁴ <i>E. coli</i>	10 ⁻⁴ <i>B. cereus</i>
Селективная питательная среда с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>	+	+	+	-	-	-	-
Селективная среда для определения бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>	+	+	+	-	-	-	-
МПА по Шукевичу	+	+	+	-	+	+	+
XLD-агар	Более 1000	Более 1000	Более 1000	-	+	-	-
Контроль посевной дозы на TCA	Сливной рост	роение	роение	85	78	95	110

«+» – наличие роста; «-» – отсутствие роста.

ем селективных накопительных бульонов оценивались следующие параметры: специфичность, повторяемость, устойчивость, предел обнаружения и промежуточная прецизионность.

Результаты валидационных испытаний представлены в табл. 1–3.

Из табл. 1 видно, что метод Шукевича (с использованием свежескошенного МПА) по пределу обнаружения уступает методу селективного обогащения. Предел метода обнаружения бактерий родов *Proteus* и *Providencia* с использованием селективных накопительных бульонов составил 10⁻⁷ (10–100 КОЕ), метода Шукевича – 10⁻⁶ (100–1000 КОЕ).

Оценка специфичности метода обнаружения бактерий родов *Proteus* и *Providencia* в кормах для животных представлена в табл. 2.

При оценке специфичности метода было установлено, что целевые микроорганизмы – бактерии родов *Proteus* и *Providencia* – определены с требуемым уровнем правильности и прецизионности, штаммы-ассоцианты (*E. faecalis*, *S. Enteritidis*, *E. coli*, *B. cereus*), присутствующие в образце, не оказывают влияния на результат определения.

Метод Шукевича предполагает использование МПА, обеспечивающего рост разных групп микроорганизмов, это, в свою очередь, требует проведения дополнительных идентификационных тестов.

Результаты по валидационным мероприятиям представлены в табл. 3.

По результатам валидационных мероприятий показано, что изменение условий инкубации посевов не влияет на процент обнаружения микроорганизмов, составляющий 100%

Таблица 3. Результаты валидационных мероприятий метода обнаружения бактерий родов *Proteus* и *Providencia* в кормах с использованием селективных накопительных сред

Параметры валидации	Контролируемые показатели	Установленные значения
Специфичность	Исследование 6 проб матрицы, зараженных <i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> в количестве 1000 КОЕ. Исследование 6 проб матрицы, зараженной <i>E. coli</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>B. cereus</i> и <i>E. faecalis</i> в количестве 10000 КОЕ	Обнаружение бактерий родов <i>Proteus</i> и <i>Providencia</i> в 100% проб, контаминированных <i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> . Отсутствие бактерий родов <i>Proteus</i> и <i>Providencia</i> в 100% проб, контаминированных бактериями родов <i>E. coli</i> , <i>S. Enteritidis</i> , <i>B. cereus</i>
Повторяемость	Исследование 45 проб матрицы, зараженных <i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> , в условиях повторяемости (на идентичном испытательном материале, с использованием одного и того же метода, одним оператором, на одном и том же оборудовании)	Обнаружение бактерий родов <i>Proteus</i> и <i>Providencia</i> в 100% проб
Устойчивость	Исследование матрицы, зараженной <i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> (1000 КОЕ), по 6 проб при температурах инкубации: селективное обогащение и подтверждение – 36°C; 36,5°C; 37°C; 37,5°C; 38°C	Обнаружение бактерий родов <i>Proteus</i> и <i>Providencia</i> в 100% проб в установленных пределах температуры инкубации
Предел обнаружения	Исследование матрицы, зараженной <i>P. mirabilis</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>P. rettgeri</i> в количестве 10–100, 100–1000, 1000–10000, 10000–100000 КОЕ	Обнаружение бактерий родов <i>Proteus</i> и <i>Providencia</i> в 96% проб
Промежуточная прецизионность	Определение степени близости результатов обнаружения бактерий родов <i>Proteus</i> и <i>Providencia</i> в условиях промежуточной (внутрилабораторной) прецизионности	Обнаружение бактерий родов <i>Proteus</i> и <i>Providencia</i> в 100% дублирующих проб

для образцов, инокулированных микроорганизмами в количестве 1000 КОЕ, что подтверждает пригодность методики по параметру «устойчивость».

Экспериментальные исследования по критериям «повторяемость» и «промежуточная прецизионность», проведенные в рамках валидации метода обнаружения бактерий родов *Proteus* и *Providencia* в кормах с использованием селективного метода обогащения, не выявили отклонений полученных результатов от установленных критериев приемлемости.

Заключение

Сравнительная оценка качества накопительных питательных сред по биологическим показателям на изолятах, выделенных из кормов для животных, показала преимущество селективной питательной среды с маннитом, желчью и полимиксином для выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* (ФБУН ГНЦ ПМБ) в сравнении с селективной средой для определения бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* (НПЦ «Биокомпас-С»), при использовании которой возникало затруднение при визуальной интерпретации результатов.

Исследования показали, что плотные дифференциально-диагностические питательные среды для выделения бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia* имели сравнимые результаты по дифференцирующим и селективным свойствам. Их применение позволило в предварительном фенотипическом тесте дифференцировать изоляты протеев по способности образовывать сероводород.

Результаты валидационных мероприятий позволили установить, что комплексное использование дифференциально-диагностических и селективных отечественных питательных сред для накопления и выделения бактерий родов *Proteus*, *Morganella* и *Providencia* значительно повысит эффективность исследований по сравнению с существующими методами, используемыми в ветеринарной практике.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора и ФГБУ ВНИИЗЖ.

Financial support

The work was carried out within the framework of the branch program of Rospotrebnadzor and FGBI ARRIAH.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Conflict of interest

Authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

Литература

1. Кремлева АА, Скоморина ЮА, Полосенко ОВ, Шепелин АП. Пути решения проблем выделения протеев в ветеринарии. Бактериология. 2020;5(4):25-9. DOI: 10.20953/2500-1027-2020-4-25-29
2. Поздеев ОК, Фёдоров РВ. Энтеробактерии: Руководство для врачей. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007, 720 с.
3. Васильев ДА, Феоктистова НА, Золотухин СН. Выделение и изучение биологических свойств бактерий рода *Proteus*. Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. 2017;2(38):70-5.
4. Барт НГ, Золотухин СН, Васильев ДА. Характеристика бактериофагов рода *Providencia*. Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения: материалы VI Международной научно-практической конференции. 2015 г. Ульяновск: УГСХА им. П.А.Столыпина; 2015;(3):62-4.
5. Литусов НВ, Сергеев АГ, Григорьева ЮВ, Ишутинова ВГ. Микрофлора окружающей среды и тела человека. Учебное пособие. 2008, 28 с.
6. Методика. Индикации бактерий рода «Протеус» в кормах животного происхождения. 1981 г. (Дата актуализации 01.01.2019) утв. Главным управлением ветеринарии МСХ СССР.
7. Шепелин АП, Полосенко ОВ, Марчихина ИИ, Шолохова ЛП, Ажермачева 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

8. Полосенко ОВ, Шепелин АП. Современные питательные среды для выделения бактерий рода *Proteus* и *Klebsiella*. Проблемы медицинской микологии. 2020;22(3):118.
9. Шепелин, АП, Полосенко ОВ. Сравнительный анализ питательных сред для выделения протеев. Бактериология. 2019;3(4):31-7. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-31-37
10. Микробиологический контроль качества пищевой продукции. Коллективная монография. Под ред. Поповой АЮ, Дятлова ИА. М.: Издательство «Династия»; 2020, с. 198-225.
11. Мартовецкий МН, Шепелин АП, Марчихина ИИ, Шолохова ЛП, Полосенко ОВ. Разработка питательных сред для выделения протеев и клебсиелл. Инфекция и иммунитет. 2016;3(6):66.
12. Методические указания. МУК 4.2.2316-08 Методы контроля бактериологических питательных сред» М.: Стандартиформ; 2008, 62 с.
13. ГОСТ ISO 11133-2016 Микробиология пищевых продуктов, кормов для животных и воды. Приготовление, производство, хранение и определение рабочих характеристик питательных сред. М.: Стандартиформ; 2016, 98 с.

References

5. Litusov NV, Sergeev AG, Grigorieva YuV, Ishutinova VG. Microflora of the environment and the human body. 2008, 28 p. (In Russian).
6. Methodology. Indications of bacteria of the genus *Proteus* in animal feed. 1981 (Update date 01.01.2019) approved. The Main Veterinary Department of the Ministry of Agriculture of the USSR. (In Russian).
7. Shepelin AP, Polosenko OV, Marchikhina II, Sholokhova LP, Azhermacheva NI, Ershova MG, Poletaeva ED. Clinical trials of salmonella enrichment medium. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2018;63(9):557-563. DOI: 10.18821/0869-2084-2018-63-9-557-563 (In Russian).
8. Polosenko OV, Shepelin AP. Modern nutrient media for isolation of bacteria of the genus *Proteus* and *Klebsiella*. Problems of Medical Mycology. 2020;22(3):118. (In Russian).
9. Shepelin AP, Polosenko OV. Comparative analysis of nutrient media for proteus isolating. Bacteriology. 2019;3(4):31-7. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-31-37 (In Russian).
10. Microbiological quality control of food products. Collective monograph. Edited by Popova AYU, Dyatlov IA. Moscow: Publishing House "Dynasty"; 2020, pp. 198-225. (In Russian).
11. Martovitsky MN, Shepelin AP, Marchikhina II, Sholokhova LP, Polosenko OV. Development of nutrient media for the isolation of proteus and klebsiella. Russian Journal of Infection and Immunity. 2016;3(6):66. (In Russian).
12. Methodological guidelines. МУК 4.2.2316-08 Methods of control of bacteriological nutrient media. Moscow: Standartinform; 2008, 62 p. (In Russian).
13. GOST ISO 11133-2016 Microbiology of food, animal feed and water. Preparation, production, storage and determination of working characteristics of nutrient media. Moscow: Standartinform; 2016, 98 p. (In Russian).

Информация о соавторе:

Полосенко Ольга Владимовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник сектора микробиологических исследований ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

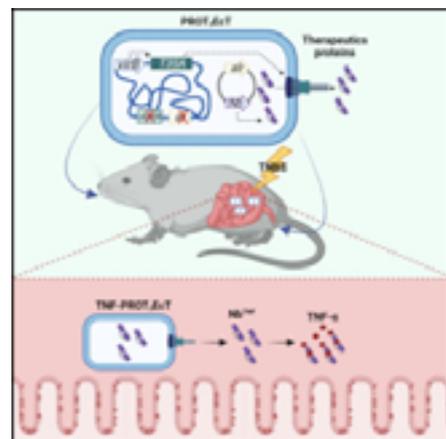
Information about co-author:

Olga V. Polosenko, PhD (Biological Sciences), Leading Researcher of the Microbiological Research Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

НОВОСТИ НАУКИ

Лекарственная платформа для направленной доставки терапевтических средств к очагам заболевания

Сообщается о разработке PROT3Ect, набора комменсальных клеток *Escherichia coli*, созданных для выделения белков непосредственно в окружающую среду. Эти бактерии состоят из трех модульных компонентов: модифицированной системы секреции бактериального белка, ассоциированного с ней регулируемого активатора транскрипции и секретируемой терапевтической полезной нагрузки. PROT3Ect секретирует функциональные однодоменные антитела, нанотела (Nbs) и стабильно колонизирует и поддерживает активную систему секреции в кишечнике мышей. Кроме того, одной профилактической дозы варианта PROT3Ect, который секретирует Nb, нейтрализующий фактор некроза опухоли- α (TNF- α), достаточно для снижения провоспалительных уровней TNF и предотвращения развития повреждения и воспаления в химически индуцированной модели колита. Эта работа закладывает основу для разработки PROT3Ect в качестве платформы для лечения желудочно-кишечных заболеваний.



Lynch JP, et al.

Engineered *Escherichia coli* for the in situ secretion of therapeutic nanobodies in the gut. *Cell Host & Microbe*. 2023;C. S1931312823001117.