

# Оценка качества отечественных питательных сред для культивирования термофильных кампилобактерий

О.В.Полосенко, Л.П.Домотенко, И.С.Косилова, М.В.Храмов

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

Бактерии рода *Campylobacter* вызывают кампилобактериоз – острое кишечное заболевание пищевого происхождения. Нормативно-методические документы регламентируют использование питательных сред при микробиологической диагностике кампилобактериоза, а также при анализе пищевой продукции и смывов с объектов окружающей среды. Способность кампилобактерий переходить под влиянием стрессовых воздействий в некультивируемые формы создает проблемы для получения объективной оценки степени контаминации исследуемых объектов.

**Цель** исследований – сравнительная оценка качества отечественных плотных питательных сред и бульонов при восстановлении штаммов термофильных кампилобактерий из лиофилизированного состояния.

**Материалы и методы.** В работе использовали референтные и ранее выделенные из биологического материала птиц штаммы термофильных кампилобактерий *C. jejuni* ATCC 33560, *C. coli* ATCC 33559, *C. jejuni* F-2, *C. jejuni* Ph-15, *C. coli* V-2, полученные из коллекции «ГКПМ-Оболенск».

**Результаты.** При восстановлении исследуемых штаммов из лиофилизированного состояния на всех плотных питательных средах, за исключением среды ЖЭКА, получены достоверно сравнимые результаты. Рост штамма *C. jejuni* Ph-15 обеспечивал только железо-эритрит-кровяной агар с кровью и азотолерантной добавкой.

При расчете показателей эффективности всех используемых бульонов обнаружено, что по ростовым свойствам бруцелла-бульон с кровью и азотолерантной добавкой превосходит бруцелла-бульон без добавок, не уступает бульону Престона с кровью и азотолерантной добавкой и обеспечивает накопление штаммов *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2 с показателем эффективности не менее чем 100 000 и 80 000 соответственно.

**Заключение.** Анализ плотных питательных сред показал, что они сравнимы по качественным характеристикам и способны заменить друг друга при культивировании термофильных кампилобактерий. Оценка ростовых свойств накопительных бульонов показала, что самый высокий показатель эффективности отмечен для бульонов с кровью и азотолерантной добавкой. Использование бруцелла-бульона с кровью и азотолерантной добавкой будет предпочтительнее при низкой нагруженности патогеном исследуемых образцов.

**Ключевые слова:** бактерии рода *Campylobacter*, кампилобактериоз, питательные среды, накопительные бульоны, эффективность

**Для цитирования:** Полосенко О.В., Домотенко Л.П., Косилова И.С., Храмов М.В. Оценка качества отечественных питательных сред для культивирования термофильных кампилобактерий. Бактериология. 2023; 8(2): 20–26. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-2-20-26

## Evaluation of Russia-made nutrient media for culturing thermophilic *Campylobacter*

O.V.Polosenko, L.P.Domotenko, I.S.Kosilova, M.V.Khramov

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

*Campylobacter* spp. are bacteria responsible for campylobacteriosis, an acute intestinal foodborne disease. Regulatory and methodological papers are governing the use of nutrient media for carrying out microbiological diagnostics of campylobacteriosis, as well as for analyzing foods and rinses from environmental objects. The ability of campylobacteria to switch under stress to uncultivable forms prevents researchers from assessing the actual extent of contamination of analyzable objects.

### Для корреспонденции:

Косилова Ирина Сергеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории разработки питательных сред ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24  
Телефон: (4967) 31-21-70  
E-mail: kosilova.irina@gmail.com

Статья поступила 02.04.2023, принята к печати 30.06.2023

### For correspondence:

Irina S. Kosilova, PhD in Biology, Researcher, Nutrient Medium Development Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rosпотребнадзор

Address: 24 «Quarter A» Territory, Obolensk, City District Serpukhov, 142279, Russian Federation  
Phone: (4967) 31-21-70  
E-mail: kosilova.irina@gmail.com

The article was received 02.04.2023, accepted for publication 30.06.2023

**The objective** of the research is to compare the quality of Russia-made solid and broths nutrient media being used to revive lyophilized thermophilic campylobacter strains.

**Materials and methods.** Referent and previously isolated avian strains of thermophilic campylobacteria *C. jejuni* ATCC 33560, *C. coli* ATCC 33559, *C. jejuni* F-2, *C. jejuni* Ph-15, and *C. coli* V-2 were used in the research. The strains were provided by the Obolensk GCPM collection.

**Results.** Reviving the lyophilized strains gave reliably comparative results for all solid nutrient media except for iron-erythritol-blood agar (IEBA). The *C. jejuni* Ph-15 strain grew only on iron-erythritol-blood agar supplemented with blood and an aerotolerant additive.

When calculating efficiency indexes for all used broths, it was found that in terms of growth properties *Brucella* broth with blood and an aerotolerant additive is superior to additives-free *Brucella* broth, is not inferior to Preston broth with blood and an aerotolerant additive, and provides enrichment of *C. jejuni* Ph-15 and *C. coli* V-2 strains with efficiency indexes of at least 100,000 and 80,000, respectively.

**Conclusion.** The analysis of the solid nutrient media showed that they are comparable in quality characteristics and may replace each other upon culturing thermophilic campylobacteria. The evaluation of the growth properties of enrichment broths revealed the highest efficiency index for broths added with blood and an aerotolerant additive. The *Brucella* broth plus blood and an aerotolerant additive is preferable if the pathogen load of the analyzable samples is low.

**Key words:** *Campylobacter* bacteria, campylobacteriosis, nutrient media, enrichment broths, efficiency

**For citation:** Polosenko O.V., Domotenko L.P., Kosilova I.S., Khramov M.V. Evaluation of Russia-made nutrient media for culturing thermophilic *Campylobacter*. Bacteriology. 2023; 8(2): 20–26. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2023-2-20-26

## Введение

Кампилобактериоз в настоящее время представляет важную проблему здравоохранения со значительными социально-экономическими последствиями, а представители бактерий рода *Campylobacter* расцениваются как одни из ведущих возбудителей острых кишечных инфекций, поражающих ежегодно миллионы человек в индустриально развитых и развивающихся странах, нанося огромные экономические убытки государствам [1–3].

В инфекционной патологии человека важнейшую роль играют виды *C. jejuni* и *C. coli*, объединенные в группу термофильных кампилобактеров на основании способности к росту при относительно высокой температуре инкубации ( $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ) [3–6].

Лабораторная диагностика кампилобактериозов, вызванных термофильными кампилобактериями, и выявление их в пищевых продуктах, объектах окружающей среды, смывах проводятся с использованием микробиологических, молекулярно-генетических и серологических методов диагностики. Выделение чистой культуры возбудителя на питательных средах является одним из основных методов лабораторной диагностики [7–10].

Нормативно-методические документы регламентируют использование ряда питательных сред при микробиологической диагностике кампилобактериоза, анализе пищевой продукции, воды и смывов с объектов окружающей среды. Бактериологическое исследование клинического материала в соответствии с методическими рекомендациями предусматривает посев испражнений непосредственно на агаризованные питательные среды (кровяной эритроцит-агар, угольный эритроцит-агар, кампилобакагар) с использованием добавок: аэротолерантных (железа II сульфат, натрия пируват, натрия метабисульфит) и селективных (смеси антибиотиков рифампицин, фузидин, амфотерицин В, цефалотин, цефоперазон, триметоприм, полимиксин В, ристомицин, цефалексин, триметоприм в разных комбинациях) [11].

При лабораторной диагностике кампилобактериоза у детей рекомендованы к использованию питательные среды Muller Hinton agar, Columbia agar base, эритроцит-агар, триптоз-

ный агар, среда без крови CCDA с цефоперазоном, среды Campy I.C., Campy BAP, ЖЭКА (железо-эритроцит-кровяной агар) [12].

Процедура выявления *Campylobacter* в образцах пищевых продуктов, сырья, смывах отличается сложностью из-за высокого уровня микробного загрязнения образцов. На общем микробном фоне исследуемого объекта количество патогенов бывает, как правило, незначительным, поэтому их прямое культивирование оказывается невозможным, в связи с чем возникает необходимость применения специальных методов обогащения [13].

Методология обнаружения бактерий рода *Campylobacter* в пищевой продукции регламентирована и предусматривает предварительный посев определенных количеств продукта в среды обогащения (накопления) [14–16]. В качестве таких сред используют бульоны Престона, Болтона, Дойла и бульон для бруцелл. Для повышения селективности вносят антибиотики, а для улучшения ростовых свойств – аэротолерантные добавки. Затем осуществляют пересев на агаризованные селективно-диагностические среды, регламентированные стандартами, с целью выделения чистой культуры. Дальнейшая идентификация изолятов проводится по совокупности культуральных, морфологических и биохимических признаков, определяющих принадлежность к бактериям рода *Campylobacter*.

Сравнительному изучению качества агаризованных питательных сред для выделения кампилобактерий различных производителей посвящен ряд статей как отечественных, так и зарубежных авторов [7–13, 17–19]. В работах зарубежных авторов имеются сведения по эффективности обогащающих бульонов Болтона, Престона, Дойла, Романа, определяемой при проведении бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии [20–22]. В работах отечественных авторов упоминается использование бульона Престона с кровью и бульон для бруцелл лабораторного изготовления для транспортирования и накопления кампилобактеров при исследовании смывов с поверхностей оборудования и объектов внешней среды [23].

**Цель исследований** – сравнительная оценка качества отечественных плотных питательных сред и бульонов при вос-

становлении штаммов термофильных кампилобактерий из лиофилизированного состояния.

### Материалы и методы

В работе использованы агаризованные питательные среды производства ФБУН ГНЦ ПМБ (Оболенск): среда ЖЭКА, приготовленная из основы железо-эритрит-кровяного агара для выделения кампилобактерий (РУ № РЗН 2022/16301) с внесением крови и азотолерантной добавки (АД); колумбийский агар (РУ № РЗН 2020/12505) в двух вариантах: с внесением крови и с внесением крови + АД; питательный бульон для культивирования возбудителя бруцеллеза (бруцелла-бульон, РУ №РЗН 2015/2948); бруцелла-бульон с внесением крови + АД; питательная среда для культивирования и выделения кампилобактерий (кампилобакагар, основа по ТУ 20.59.52-288-78095326-2018) с внесением крови. Питательные среды готовили в соответствии с инструкциями производителя.

В работе использовали агар и бульон Престона лабораторного приготовления, которые готовили по рецептурам, изложенным в методических руководствах и нормативных документах, с внесением крови + АД [24].

Для приготовления кровяных сред использовали стерильную дефибрированную баранью кровь («Эколаб») из расчета 70 мл/л среды и азотолерантную добавку, состоящую из метабисульфита натрия – 0,025 г/л, натрия пировинограднокислого – 0,025 г/л и железа (II) сернокислого 7-водного – 0,025 г/л.

Для контроля питательных сред использовали музейные штаммы: референтные *C. jejuni* ATCC 33560 и *C. coli* ATCC 33559, а также ранее выделенные из биологического материала птиц фермерского хозяйства Московской области штаммы *C. jejuni* F-2 (чувствительный к ципрофлоксацину, эритромицину и тетрациклину), *C. jejuni* Ph-15 (устойчивый к ципрофлоксацину, эритромицину и тетрациклину), *C. coli* V-2 (устойчивый к ципрофлоксацину), депонированные в Государственную коллекцию патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск». Все штаммы получены из коллекции в лиофилизированном виде.

Посевы на плотных питательных средах инкубировали в течение 48 ч при температуре  $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в микроаэрофильных условиях, а в бульонах – сначала при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  в течение 4 ч, затем – при температуре  $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в течение 18 ч в микроаэрофильных условиях в соответствии с требованиями МУ 4.2.3545-18.

Микроаэрофильные условия обеспечивали при помощи газогенерирующих пакетов GasPak (BD, кат. № 260680) с использованием анаэролата «АЭ-01» (ООО «НИКИ МЛТ»).

Показатель эффективности – (прирост) числа микроорганизмов в накопительной среде – определяли в соответствии с нормативными документами [25] по формуле (%):

$$\Theta = \frac{n_t \times K}{n_0},$$

где  $\Theta$  – показатель эффективности (прирост);  
 $n_t$  – среднее число колоний на чашках после инкубации культуры в жидкой накопительной среде;  
 $n_0$  – среднее число колоний при «нулевом посеве»;  
 $K$  – степень разведения.

### Результаты

1. Оценка качества питательных сред при восстановлении штаммов кампилобактерий из лиофилизированного состояния

Восстановление исследуемых штаммов *C. jejuni* ATCC 33560, *C. coli* ATCC 33559, *C. jejuni* F-2, *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2 из лиофилизированного состояния проводили путем суспендирования их в физиологическом растворе, титрования полученной суспензии в бруцелла-бульоне до разведения  $10^{-6}$  и последующего высева на плотные и жидкие питательные среды. Исходные концентрации микробных взвесей всех штаммов перед лиофилизацией составляли  $\sim 10^9$  клеток/флакон. Для определения показателя эффективности жидких накопительных сред использовали только штаммы *C. jejuni* F-2, *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2.

Качество питательных сред оценивали по максимальному разведению микробной суспензии, при посеве из которого визуально обнаруживался типичный рост микроорганизмов.

Таблица 1. Ростковые свойства плотных питательных при посеве исследуемых штаммов *Campylobacter*  
 Table 1. Growth characteristics of solid nutrient media when culturing analyzable *Campylobacter* strains

Питательные среды / Nutrient media	Количество и размер (мм) колоний штаммов кампилобактерий, выросших из максимальных разведений лиофилизированных культур / The number and size (mm) of colonies of campylobacter strains grown using maximum dilutions of lyophilized cultures				
	<i>C. jejuni</i> Ph-15	<i>C. jejuni</i> F-2	<i>C. coli</i> V-2	<i>C. jejuni</i> ATCC 33560	<i>C. coli</i> ATCC 33559
	$10^{-1}$	$10^{-4}$	$10^{-4}$	$10^{-6}$	$10^{-6}$
Кампилобакагар с кровью / <i>Campylobacter</i> agar and blood	роста нет	40 (1,0–1,2)	44 (1,2–1,6)	59 (1,2–1,4)	55 (1,4–1,8)
Колумбийский агар с кровью / <i>Columbia</i> agar and blood	роста нет	38 (1,2–1,4)	36 (1,2–1,6)	58 (1,2–1,4)	52 (1,4–1,8)
Колумбийский агар с кровью + АД / <i>Columbia</i> agar and blood + AA	роста нет	36 (1,2–1,4)	41 (1,2–1,6)	60 (1,2–1,4)	63 (1,4–1,8)
Агар Престона с кровью + АД / <i>Preston</i> agar and blood + AA	роста нет	35 (1,2–1,4)	39 (1,2–1,6)	56 (1,2–1,4)	58 (1,4–1,8)
ЖЭКА с кровью + АД / <i>IEBA</i> and blood + AA	22 (1,2–1,4)	38 (1,2–1,4)	46 (1,2–1,6)	60 (1,2–1,4)	65 (1,4–1,8)

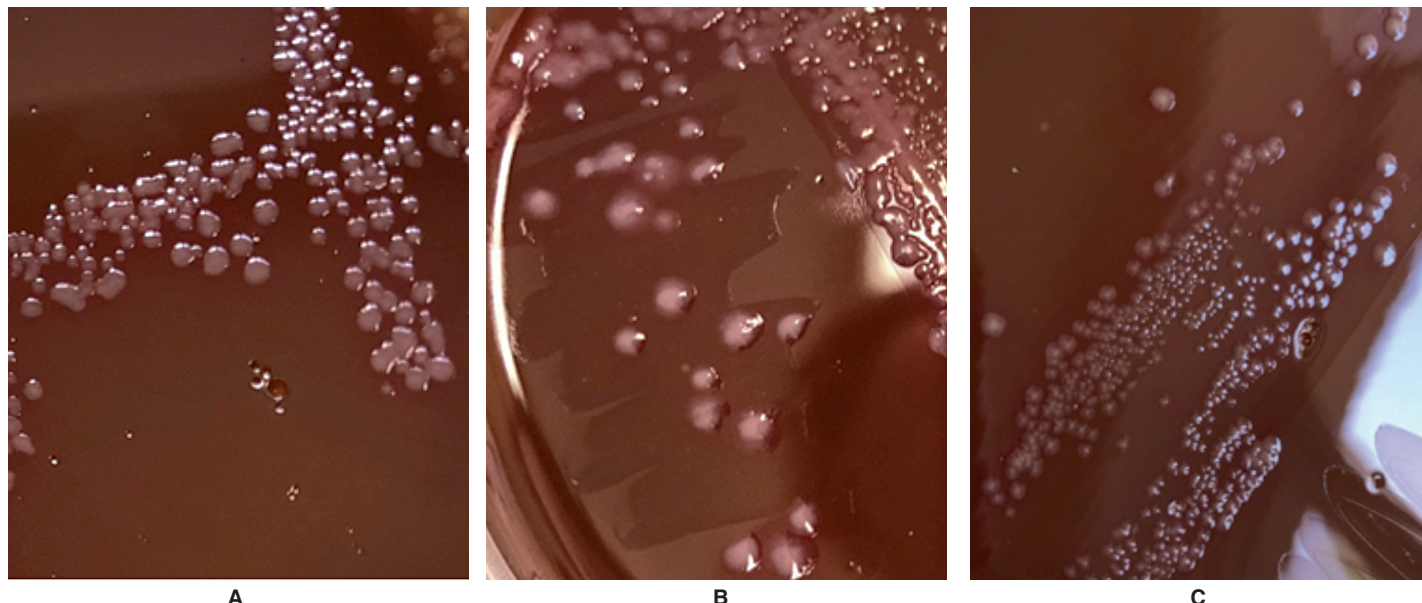


Рисунок. Рост штаммов кампилобактерий на среде ЖЭКА после инкубации посевов при  $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в течение 48 ч: А – *C. jejuni* ATCC 33560; В – *C. coli* ATCC 33559; С – *C. jejuni* Ph-15.

Fig. The growth of campylobacterial strains on IEBA after incubation at  $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$  for 48 h: А – *C. jejuni* ATCC 33560; В – *C. coli* ATCC 33559; С – *C. jejuni* Ph-15.

Посевы штаммов на плотные питательные среды осуществляли по 0,1 мл, а в бульоны – по 1,0 мл, инокулируя в 9,0 мл питательной среды.

#### Плотные питательные среды

Результаты посевов исследуемых штаммов кампилобактерий на плотные питательные среды представлены в табл. 1.

Рост тест-штаммов *C. jejuni* ATCC 33560 и *C. coli* ATCC 33559 обнаруживался на всех используемых питательных средах из разведения  $10^{-6}$ . *C. jejuni* ATCC 33560 выросли в виде круглых, полупрозрачных с сероватым оттенком, блестящих колоний диаметром 1,2–1,4 мм; *C. coli* ATCC 33559 – в виде плоских полупрозрачных колоний, растекающихся по поверхности среды, с краями неправильной формы, диаметром 1,4–1,8 мм.

Рост штаммов *C. jejuni* F-2 и *C. coli* V-2 наблюдался из разведения  $10^{-4}$  в виде гладких полупрозрачных с сероватым оттенком колоний диаметром 1,2–1,6 мм на всех испытуемых питательных средах. Рост штамма *C. jejuni* Ph-15 отмечен только на среде ЖЭКА из разведения  $10^{-1}$  в виде полупрозрачных серых колоний диаметром 1,2–1,4 мм.

Рост некоторых тест-штаммов кампилобактерий на среде ЖЭКА продемонстрирован на рисунке (штриховой посев).

#### Жидкие накопительные среды (бульоны)

При восстановлении штаммов кампилобактерий из лиофилизированного состояния в бруцелла-бульоне визуальный рост в виде равномерного помутнения обнаружен только для *C. jejuni* F-2. После инкубации посевов *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2 в бруцелла-бульоне не наблюдалось признаков роста. Отсутствие роста культур подтверждено высевом бульона на среду ЖЭКА.

Визуально оценить рост в кровяном бульоне Престона было невозможно из-за высокой мутности среды. При пересеве культуральной жидкости штаммов *C. jejuni* F-2, *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2 на среду ЖЭКА наблюдался интенсивный рост кампилобактерий.

Учитывая полученные результаты, для проведения дальнейшей работы приготовили обогащенный вариант бруцелла-бульона, в который вносили кровь и АД по аналогии с бульоном Престона. Такой вариант бульона, на наш взгляд, будет предпочтительнее при низкой нагруженности патогеном образцов пищевых продуктов и объектов окружающей среды.

#### 2. Определение эффективности бульонов

Оценку эффективности проводили для трех бульонов: бульона Престона, бруцелла-бульона и бруцелла-бульона с кровью + АД, с использованием антибиотикоустойчивых штаммов *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2. Для этого культуры с бульона Престона высевали на среду ЖЭКА. Выросшие в течение 48 ч при температуре  $42 \pm 0,5^\circ\text{C}$  в микроаэрофильных условиях культуры каждого штамма использовали для приготовления стандартной взвеси, соответствующей 10 единицам по стандартному образцу мутности ОСО 42-28-85 П (ФГБУ «НЦЭСМП» МЗ РФ), в стерильном 0,9%-м растворе натрия хлористого. Полученные взвеси культур титровали в бруцелла-бульоне до разведений  $10^{-1}$ – $10^{-6}$ . По 1 мл каждого разведения вносили в 9 мл бульона Престона и бруцелла-бульона. Из пробирок со средами, засеянными из разведений  $10^{-6}$ , проводили посев по 0,1 мл на среду ЖЭКА для определения концентрации микробных суспензий («нулевой» посев).

После инкубации засеянных бульонов, независимо от видимых изменений, осуществляли ряд десятикратных разведений содержимого каждой пробирки в бруцелла-бульоне, вплоть до разведения  $10^{-6}$ , после чего производили высева на чашки со средой ЖЭКА (по 0,1 мл на чашку).

При учете результатов выбирали те разведения, при которых на среде ЖЭКА выросло не более 100 колоний. Для штамма *C. jejuni* Ph-15 в бульоне Престона учитывали разведение  $10^{-4}$ , в бруцелла-бульоне с кровью + АД –  $10^{-5}$ , в бруцелла-бульоне –  $10^{-2}$ . Для штамма *C. coli* V-2 в бульоне

Таблица 2. Показатель эффективности накопительных сред при посеве штаммов *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2  
 Table 2. The efficacy index for enrichment nutrient media when culturing *C. jejuni* Ph-15 and *C. coli* V-2 strains

Накопительные среды / Enrichment media	Количество выросших колоний на ЖЭКА после высева из бульонов / The number of colonies grown on IEBA after broth plating		Показатель эффективности / Efficiency index
	«Нулевой» посев / «zero» culture	После инкубации / post-incubation	
<i>C. jejuni</i> Ph-15			
Бульон Престона с кровью + АД / Preston broth and blood + AA	73 ± 5	57 ± 5	7808 ± 141
Бруцелла-бульон с кровью + АД / Brucella broth and blood + AA	70 ± 6	80 ± 7	114285 ± 195
Бруцелла-бульон / <i>Brucella</i> broth	69 ± 4	49 ± 2	71 ± 1
<i>C. coli</i> V-2			
Бульон Престона с кровью + АД / Preston broth and blood + AA	50 ± 4	27 ± 2	54000 ± 290
Бруцелла-бульон с кровью + АД / Brucella broth and blood + AA	53 ± 3	44 ± 2	83018 ± 860
Бруцелла-бульон / <i>Brucella</i> broth	48 ± 3	51 ± 4	106 ± 2

Престона учитывали разведение  $10^{-5}$ , в бруцелла-бульоне с кровью и АД –  $10^{-5}$ , в бруцелла-бульоне –  $10^{-2}$ . Степень разведения учитывали при обработке результатов.

Рассчитанные показатели эффективности для трех бульонов по формуле, приведенной в разделе «Материалы и методы», представлены в табл. 2.

### Обсуждение

При восстановлении исследуемых штаммов кампилобактерий, кроме *C. jejuni* Ph-15, из лиофилизированного состояния все агаризованные питательные среды (среда ЖЭКА, колумбийский агар с кровью, колумбийский агар с кровью + АД, кампилобакагар с кровью, агар Престона с кровью + АД) показали достоверно сравнимые результаты. Они обеспечивали рост референтных штаммов *C. jejuni* ATCC 33560, *C. coli* ATCC 33559 из разведения  $10^{-6}$ , а *C. jejuni* F-2 и *C. coli* V-2 – из  $10^{-4}$ . Штамм *C. jejuni* Ph-15 восстановлен только на питательной среде ЖЭКА.

При использовании накопительных бульонов восстановление лиофилизированных штаммов микроорганизмов наблюдалось только на бульоне с кровью + АД. Сравнительный анализ бульонов без крови и с кровью + АД показал, что для штамма *C. jejuni* Ph-15 показатель эффективности бульона Престона с кровью + АД, бруцелла-бульона с кровью + АД и бруцелла-бульона составил  $7808 \pm 141$ ,  $114285 \pm 195$  и  $71 \pm 1$  соответственно. При росте штамма *C. coli* V-2 показатель эффективности бульона Престона с кровью + АД составил  $54000 \pm 290$ , бруцелла-бульона с кровью + АД –  $83018 \pm 860$ , а бруцелла-бульона –  $106 \pm 2$ .

Как показали результаты исследования, бруцелла-бульон с кровью и АД превосходит бруцелла-бульон без добавок, не уступает бульону Престона и обеспечивает накопление *C. jejuni* Ph-15 и *C. coli* V-2 с показателем эффективности не менее чем 100 000 и 80 000 соответственно.

Таким образом, сравнительный анализ бульонов по показателю эффективности показал, что значительное накопление термофильных штаммов кампилобактерий наблюдалось на бульонах, содержащих кровь и аэротолерантные добавки.

### Заключение

Сравнительная оценка ростовых свойств питательных сред показала, что плотные питательные среды кампилобак-агар с кровью, среда ЖЭКА, среда Престона и колумбийский агар с кровью и АД сравнимы по качественным характеристикам и способны заменить друг друга при культивировании термофильных кампилобактерий.

С целью повышения эффективности накопления бактерий рода *Campylobacter* модифицированы рецептуры традиционно используемых бульонов. Применение эффективных накопительных питательных сред с улучшенными ростовыми свойствами, таких как бруцелла-бульон с кровью и АД, при исследовании объектов, имеющих незначительное количество кампилобактерий, позволит повысить качество и достоверность лабораторных исследований с целью их выявления.

### 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.

### Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

### Financial support

The work was supported by the Sectoral Scientific Program of Rosпотребнадзор.

### Литература

1. Гритчина АВ, Мищук ВИ, Пожалостина ЛВ. Кампилобактериоз: роль в инфекционной патологии человека. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2006;6(31):38-41.
2. Бехтерева МК, Ныркова ОИ, Сиземов АН. Кампилобактериоз. Педиатр. 2012;3(3):102-109.
3. Горелов АВ. Кампилобактериоз у детей. Инфекционные болезни. 2004;2(3):80-82.

4. Ефимочкина НР. Оценка роли бактерий рода *Campylobacter* в возникновении пищевых токсикоинфекций и современные методы обнаружения возбудителя. Вопросы питания. 2015;84(6):5-18.
5. Costa D, Iraola G. Pathogenomics of Emerging *Campylobacter* Species. Clin Microbiol Rev. 2019 Jul 3;32(4):e00072-18. DOI: 10.1128/CMR.00072-18
6. Стеценко ВВ, Ефимочкина НР. Механизмы формирования антибиотикорезистентности бактерий рода *Campylobacter*. Антибиотики и химиотерапия. 2018;63(9-10):61-68.
7. Попова АЮ, Дятлов ИА. Микробиологический контроль качества пищевой продукции. М.: Династия; 2020.
8. Шепелин АП, Полосенко ОВ. Выявление кампилобактерий культуральным методом. Справочник заведующего КДЛ. 2022;1:25-35.
9. Кремлева АА, Скоморина ЮА, Ахметова ЛШ, Подольская ТВ, Шепелин АП, Полосенко ОВ. Сравнительный анализ питательных сред отечественных и зарубежных производителей для выделения кампилобактерий. Бактериология. 2021;6(2):32-37. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-32-37
10. Полосенко ОВ, Шепелин АП, Марчихина ИИ, Шолохова ЛП. Разработка питательной среды для выделения кампилобактерий. Бактериология. 2021;6(3):60.
11. МУ 01/15702-8-34. Микробиологическая диагностика кампилобактериоза. Методические рекомендации. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008.
12. Ефимочкина НР, Пичугина ТВ, Стеценко ВВ, Быкова ИБ, Маркова ЮМ, Короткевич ЮВ, и др. Оптимизация методов контроля пищевых продуктов на основе создания дифференциально-диагностических сред для выделения и культивирования бактерий рода *Campylobacter*. Вопросы питания. 2017;86(5):34-41.
13. Шевелёва СА, Ефимочкина НР, Пичугина ТВ, Быкова ИБ, Стеценко ВВ, Маркова ЮМ, и др. Ускоренные методы обнаружения бактерий рода *Campylobacter* в пищевых продуктах. Гигиена и санитария. 2018;97(10):995-1000. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-10-995-1000
14. МУ 4.2.3545-18. Методы ускоренного определения бактерий рода *Campylobacter* в пищевой продукции и оценка их антибиотикорезистентности. Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2019.
15. МУК 4.2.2321-08. Методы определения бактерий рода *Campylobacter* в пищевых продуктах: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008.
16. ГОСТ ISO 10272-1-2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы обнаружения и подсчета бактерий *Campylobacter* spp. Часть 1. Метод обнаружения. М.: Стандартинформ, 2013.
17. Corry JE, Post DE, Colin P, Laisney MJ. Culture media for the isolation of campylobacters. Int J Food Microbiol. 1995 Jun;26(1):43-76. DOI: 10.1016/0168-1605(95)00044-k
18. Acke E, McGill K, Golden O, Jones BR, Fanning S, Whyte P. A comparison of different culture methods for the recovery of *Campylobacter* species from pets. Zoonoses Public Health. 2009 Nov;56(9-10):490-5. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2008.01205.x
19. Butzler JP, Skirrow MB. *Campylobacter* enteritis. Clin Gastroenterol. 1979 Sep;8(3):737-65.
20. Heisick J. Comparison of enrichment broths for isolation of *Campylobacter jejuni*. Appl Environ Microbiol. 1985 Nov;50(5):1313-4. DOI: 10.1128/aem.50.5.1313-1314.1985
21. Hodge DS, Terro R. Comparative efficacy of liquid enrichment medium for isolation of *Campylobacter jejuni*. J Clin Microbiol. 1984 Mar;19(3):434. DOI: 10.1128/jcm.19.3.434-1984
22. Bi S-I, Shi L, Yan H, Meng H-C. Comparison of various culture methods (Skirrow medium, a blood-free medium and a filtration system enriched in Bolton and Preston broths) for isolation of *Campylobacter* spp. from raw meat samples. Annals of Microbiology. 2013;63(1):179-185. DOI: 10.1007/s13213-012-0459-y
23. Ефимочкина НР, Быкова ИБ, Стеценко ВВ, Минаева ЛП, Пичугина ТВ, Маркова ЮМ, и др. Изучение характера контаминации и уровней содержания бактерий рода *Campylobacter* в отдельных видах пищевой продукции. Вопросы питания. 2016;85(5):52-59.
24. МУК 4.2.2959. Методы санитарно-микробиологического и санитарно-паразитологического анализа прибрежных вод морей в местах водопользования населения: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2011.
25. МУК 4.2.2316-08. Методы контроля бактериологических питательных сред: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008.

## References

1. Gritchina AV, Mishchuk VI, Pozhalostina LV. Campylobacteriosis: role in human infectious pathology. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2006;6(31):38-41. (In Russian).
2. Bekhtereva MK, Nyrkova OI, Sizemov AN. Campylobacteriosis. Pediatrician (St. Petersburg). 2012;3(3):102-109. (In Russian).
3. Gorelov AV. Campylobacteriosis in children. Infekc. bolezni (Infectious Diseases). 2004;2(3):80-82. (In Russian).
4. Efimochkina NR. Evaluation of the role of bacteria of the genus *Campylobacter* in the occurrence of food toxic infections and modern methods for detecting the pathogen. Problems of Nutrition. 2015;84(6):5-18. (In Russian).
5. Costa D, Iraola G. Pathogenomics of Emerging *Campylobacter* Species. Clin Microbiol Rev. 2019 Jul 3;32(4):e00072-18. DOI: 10.1128/CMR.00072-18
6. Stetsenko VV, Efimochkina NR. The mechanisms of antibiotic resistance in bacteria of the genus *Campylobacter*. Antibiotics and Chemotherapy. 2018;63(9-10):61-68. (In Russian).
7. Popova AYU, Dyatlov IA. Mikrobiologicheskii kontrol' kachestva pishchevoi produktsii. Moscow: «Dinastiya» Publ.; 2020. (In Russian).
8. Shepelin AP, Polosenko OV. Detection of *Campylobacter* by culture method. Spravochnik zaveduyushchego KDL. 2022;1:25-35. (In Russian).
9. Kremleva AA, Skomorina YuA, Akhmetova LSh, Podol'skaya TB, Shepelin AP, Polosenko OV. Comparative analysis of medium for isolation of *Campylobacter* spp. of domestic and foreign producers. Bacteriology. 2021;6(2):32-37. DOI: 10.20953/2500-1027-2021-2-32-37 (In Russian).
10. Полосенко ОВ, Шепелин АП, Марчихина ИИ, Шолохова ЛП. Разработка питательной среды для выделения кампилобактерий. Bacteriology. 2021;6(3):60. (In Russian).
11. МУ 01/15702-8-34. Microbiological diagnostics of campylobacteriosis. Methodological recommendations. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosptrebnadzor, 2008. (In Russian).
12. Efimochkina NR, Pichugina TV, Stetsenko VV, Bykova IB, Markova YuM, Korotkevich YuV, et al. Optimization of microbiological methods for food control based on the differential-diagnostic media for the isolation and cultivation of bacteria of the genus *Campylobacter*. Problems of Nutrition. 2017;86(5):34-41. (In Russian).
13. Sheveleva SA, Efimochkina NR, Pichugina TV, Bykova IB, Stetsenko VV, Markova YuM, et al. Accelerated methods for detecting bacteria of the genus *Campylobacter* in food. Hygiene and Sanitation. 2018;97(10):995-1000. DOI: 10.18821/0016-9900-2018-97-10-995-1000 (In Russian).
14. МУ 4.2.3545-18. Methods for the accelerated determination of bacteria of the genus *Campylobacter* in food products and the assessment of their antibiotic resistance. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rosptrebnadzor, 2019. (In Russian).
15. МУК 4.2.2321-08. Methods for the determination of bacteria of the genus *Campylobacter* in food products. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rosptrebnadzor, 2008. (In Russian).

16. GOST ISO 10272-1-2013. Microbiology of food and animal feed. Methods for detection and enumeration of *Campylobacter* spp. Part 1. Method of detection. Moscow: «Standartinform» Publ.; 2013. (In Russian).
17. Corry JE, Post DE, Colin P, Laisney MJ. Culture media for the isolation of campylobacters. Int J Food Microbiol. 1995 Jun;26(1):43-76. DOI: 10.1016/0168-1605(95)00044-k
18. Acke E, McGill K, Golden O, Jones BR, Fanning S, Whyte P. A comparison of different culture methods for the recovery of *Campylobacter* species from pets. Zoonoses Public Health. 2009 Nov;56(9-10):490-5. DOI: 10.1111/j.1863-2378.2008.01205.x
19. Butzler JP, Skirrow MB. *Campylobacter* enteritis. Clin Gastroenterol. 1979 Sep;8(3):737-65.
20. Heisick J. Comparison of enrichment broths for isolation of *Campylobacter jejuni*. Appl Environ Microbiol. 1985 Nov;50(5):1313-4. DOI: 10.1128/aem.50.5.1313-1314.1985
21. Hodge DS, Terro R. Comparative efficacy of liquid enrichment medium for isolation of *Campylobacter jejuni*. J Clin Microbiol. 1984 Mar;19(3):434. DOI: 10.1128/jcm.19.3.434-1984
22. Bi S-I, Shi L, Yan H, Meng H-C. Comparison of various culture methods (Skirrow medium, a blood-free medium and a filtration system enriched in Bolton and Preston broths) for isolation of *Campylobacter* spp. from raw meat samples. Annals of Microbiology. 2013;63(1):179-185. DOI: 10.1007/s13213-012-0459-y
23. Efimochkina NR, Bykova IB, Stetsenko VV, Minaeva LP, Pichugina TV, Markova YuM, et al. The study of the contamination and the levels of *Campylobacter* spp. during the processing of selected types of foods. Problems of Nutrition. 2016;85(5):52-59. (In Russian).
24. MUK 4.2.2959. Methods of sanitary-microbiological and sanitary-parasitological analysis of coastal waters of the seas in places where the population uses water: Methodological guidelines. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2011. (In Russian).
25. MUK 4.2.2316-08 Methods of control of bacteriological nutrient media: Guidelines. Moscow: Federal Center of Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2008. (In Russian).

#### Информация о соавторах:

Полосенко Ольга Вадимовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологических и физико-химических методов анализа ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Домотенко Любовь Викторовна, кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории разработки питательных сред ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Храмов Михаил Владимирович, кандидат медицинских наук, заместитель директора по качеству и развитию ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

#### Information about co-authors:

Olga V. Polosenko, PhD in Biology, Leading Researcher, Microbiological And Physic-Chemical Methods Of Analysis Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor

Lyubov V. Domotenko, PhD in Chemistry, Leading Researcher, Nutrient Medium Development Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor

Mikhail V. Khramov, PhD, MD, Deputy Director for Quality and Development, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Rospotrebnadzor

## НОВОСТИ НАУКИ

### Устойчивость к противомикробным препаратам нетифозной сальмонеллы в Китае

Нетифоидная сальмонелла (NTS) является основной причиной сальмонеллеза человека во всем мире. Пищевые животные являются основными резервуарами NTS. Повышение устойчивости к противомикробным препаратам (УПП) при НТС пищевого происхождения привело к неэффективности клинического лечения. Чтобы изучить распространенность и дать характеристику NTS пищевого происхождения с УПП в Китае, протестировали чувствительность к противомикробным препаратам 1256 изолятов NTS, выделенных из розничных пищевых продуктов в 2020 году в Китае.

Чувствительность к противомикробным препаратам 26 противомикробных препаратов, представляющих 12 классов, оценивали методом бульонных микроразведений; наличие десяти генов *mcr* проверяли с помощью мульти-ПЦР. Полные закрытые геномы изолятов, несущих ген *mcr*, были созданы путем гибридной сборки путем полногеномного секвенирования на платформах PacBio и Illumina. Были проанализированы геномные особенности и генетическое окружение гена *mcr-1*.

Общая лекарственная устойчивость составила 92,28%, а множественная лекарственная устойчивость (МЛУ) – 76,53%. Всего был определен 341 профиль AMR, при этом устойчивость была самой высокой к налидиксовой кислоте (63,38%). Среди 887 изолятов NTS с МЛУ 232 показали резистентность к цефотаксиму и ципрофлоксацину, а 25 были устойчивы к десяти классам противомикробных препаратов. Устойчивость НТС, выделенных из разных регионов, неодинакова. Наиболее часто резистентность проявляли изоляты из сырых куриных источников. Четыре NTS несли ген *mcr-1* и представляли четыре разных серотипа. Четыре плазмиды, несущие ген *mcr-1*, из четырех изолятов *Salmonella* были классифицированы по двум типам репликонов (Incl2 и IncHI2A). Было обнаружено, что два гена *mcr-1* в плаزمиде типа Incl2 расположены между геном, кодирующим белок семейства PAP2, и геном, кодирующим релаксазу, тогда как две другие структуры гена *mcr-1* в плазмиде типа IncHI2A показали вариации в присутствии вставок.

Эти данные продемонстрировали тяжелую УПП среди НТС пищевого происхождения, выделенных из пищевых продуктов в Китае, что подчеркивает важность эпиднадзора за чувствительностью к противомикробным препаратам для снижения распространения УПП, особенно к критически важным лекарственным средствам в медицине.

Yujie Hu, Chenxi Zhang, Jing Zhang, et al.  
*Antimicrobial Resistance in Non-typhoidal Salmonella from Retail Foods Collected in 2020 in China. Zoonoses. 2023; Vol. 3(1). DOI: 10.15212/ZOONOSES-2023-0001*