

Разработка и оценка эффективности отечественного селективного бульона Жиолитти–Кантони для накопления и идентификации *Staphylococcus aureus*

О.В.Полосенко, М.В.Храмов, А.Ю.Сёмина

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

Роль стафилококков в этиологии различных заболеваний неуклонно растёт. Пищевая стафилококковая инфекция, вызванная *Staphylococcus aureus*, является одной из наиболее распространенных причин пищевых отравлений в мире. Для мониторинга состояния продуктов питания на содержание стафилококков с целью профилактики пищевых отравлений и токсикоинфекций основным является метод культурального исследования, а в числе приоритетных направлений – разработка и внедрение в практику современных питательных сред для выявления и ускоренного выделения патогена.

Целью работы явилась разработка отечественной питательной среды «Бульон Жиолитти–Кантони» для накопления и идентификации *S. aureus*. Проведена специфическая оценка биологических свойств питательной среды на широком наборе тест-штаммов. Разработана среда, состав которой в совокупности с условиями культивирования определяет множественность выполняемых ею функций: редукция теллурита калия в металлический теллур облегчает идентификацию стафилококков уже на этапе первичного исследования; хлорид лития, теллурид калия и анаэробные условия способствуют угнетению роста сопутствующих бактерий. С целью получения сухой питательной основы бульона Жиолитти–Кантони отработана технология высушивания панкреатического гидролизата рыбной муки с твином. Исследование показало корректность выбора белковой основы, позволяющей получить сухую среду с улучшенными ростовыми и селективными свойствами.

Ключевые слова: стафилококки, *Staphylococcus aureus*, бульон Жиолитти–Кантони, агар Байрд–Паркера, твин, эффективность

Для цитирования: Полосенко О.В., Храмов М.В., Сёмина А.Ю. Разработка и оценка эффективности отечественного селективного бульона Жиолитти–Кантони для накопления и идентификации *Staphylococcus aureus*. Бактериология. 2024; 9(3): 46–51. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-3-46-51

Development and evaluation of the effectiveness of the domestic selective Giolitti–Cantoni broth for the accumulation and identification of *Staphylococcus aureus*

O.V.Polosenko, M.V.Khramov, A.Yu.Semina

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

The role of staphylococci in the etiology of various diseases is steadily growing. Staphylococcal foodborne infection caused by *Staphylococcus aureus* is one of the most common causes of food poisoning worldwide.

To control food stuffs for staphylococci to prevent food poisoning and toxic infections there is the main method of culture research, and among areas of priority is the development and implementation of modern nutrient media allowing the detection and express isolation of the pathogen.

The objective of the research was to develop a nutrient medium “Giolitti–Cantoni Broth” for the accumulation and identification of *S. aureus*. Biological properties of the nutrient medium were specifically assessed using a wide range of test strains from the

Для корреспонденции:

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

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

Статья поступила 15.10.2024, принята к печати 30.09.2024

For correspondence:

Olga V. Polosenko, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Microbiological and Physic-Chemical Methods Of Analysis Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 “Quarter A” Territory, Obolensk, City District Serpukhov, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 31-21-70
E-mail: polosenko@obolensk.org

The article was received 15.10.2024, accepted for publication 30.09.2024

State Collection of Pathogenic Microorganisms and Cell Cultures (SCPM-Obolensk). A medium has been developed, whose composition along with culture conditions determines the multiplicity of its functions. The reduction of potassium tellurite to metallic tellurium facilitates the identification of staphylococci as early as at the stage of initial research. Lithium chloride, potassium tellurite, and anaerobic conditions contribute to the inhibition of the growth of concomitant bacteria. To produce a dry nutritional base for Giolitti–Cantoni broth the technology of drying fish meal pancreatic hydrolysate in the presence of twin has been developed. The research proved the right choice of the protein base allowing the production of the dry medium with improved growth and selective properties.

Key words: *staphylococci, Staphylococcus aureus, Giolitti–Cantoni broth, Baird-Parker agar, twin, effectiveness*

For citation: Polosenko O.V., Khramov M.V., Semina A.Yu. Development and evaluation of the effectiveness of the domestic selective Giolitti–Cantoni broth for the accumulation and identification of *Staphylococcus aureus*. *Bacteriology*. 2024; 9(3): 46–51. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2024-3-46-51

Широкое распространение заболеваний стафилококковой инфекцией связано в первую очередь с интенсивностью циркуляции стафилококков, значительной устойчивостью их во внешней среде и естественным отбором высоковирулентных, полирезистентных к антибактериальным препаратам штаммов. Устойчивые штаммы бактерий рода *Staphylococcus* являются одной из наиболее актуальных проблем медицины на протяжении длительного времени. Это связано с тем, что стафилококки имеют ряд патогенных факторов и вырабатывают множество метаболитов с выраженными токсическими свойствами [1].

Существует более 23 токсинов стафилококковых суперантигенов, обладающих способностью инициировать массивную неспецифическую активацию Т-клеток, приводящую к выбросу провоспалительных цитокинов (например, интерлейкина-2, интерферона- γ и фактора некроза опухоли и др.), тем самым вызывая появление высокой температуры, сыпи, рвоты, диареи, гипотонии и других различных симптомов, которые часто могут приводить к развитию полиорганной недостаточности [2].

Staphylococcus aureus (золотистый стафилококк) является широко распространенным микроорганизмом, способным вызывать разные по форме и тяжести инфекции. По сравнению с другими представителями этого рода золотистый стафилококк обладает более широким набором факторов вирулентности [3, 4]. Штаммы *S. aureus* продуцируют суперантигены, действие которых приводит к развитию различных интоксикаций, таких как пищевая токсикоинфекция и синдром токсического шока [5–7].

Ответственными за клиническую картину пищевой инфекции являются стафилококковые энтеротоксины, представляющие собой экзотоксины с сильным действием на желудочно-кишечный тракт. Абсолютное большинство случаев пищевой токсикоинфекции связано с продукцией основных энтеротоксинов: А, В, С, D и Е. Энтеротоксины обладают свойствами суперантигенов и способны вызывать неспецифическую пролиферацию Т-лимфоцитов [5, 6].

Основными источниками обсеменения *S. aureus* пищевых продуктов являются люди и животные с гнойно-воспалительными процессами (абсцессы, фурункулы, гнойные раны и др.), а также носители этих микроорганизмов. Контаминированные пищевые продукты создают возможность возникновения различных заболеваний при употреблении их отдельными лицами и целыми коллективами [1, 8, 9].

Для профилактики пищевых отравлений и токсикоинфекций, вызываемых стафилококками, необходимы исследова-

ния пищевых продуктов на соответствие требованиям Госстандартов [10–12].

Применение культурального метода обеспечивает возможность выделения возбудителя, получения чистой культуры, изучения его морфологических и физиологических особенностей. Выделение чистой культуры стафилококка на основных средах осуществляется с учетом его культуральных особенностей галофильности (хорошее развитие в присутствии избыточного содержания поваренной соли при одновременном угнетении прочей микрофлоры). Тем не менее высокая концентрация хлористого натрия все же недостаточна для подавления некоторых сопутствующих микроорганизмов [13]. В настоящее время востребованы питательные среды, обладающие не только более выраженными селективными свойствами, но и позволяющие идентифицировать стафилококки на этапе первичного посева.

В отечественной нормативно-методической базе существует ряд методических документов, регламентирующих определение стафилококков в продуктах питания. Существует некоторое отличие методик, изложенных в отечественных и международных документах, заключающееся в питательных средах, которые регламентированы для определения соответствующего показателя. Так, предположительное присутствие коагулазоположительных стафилококков в бульоне Жиолитти–Кантони определяют по редукции теллурида калия, на глюкозном или солевом бульоне – по помутнению среды [12].

Подтверждение принадлежности типичных и/или атипичных колоний к коагулазоположительным стафилококкам проводят по изучению отношения выявленных микроорганизмов к окраске по Граму, определению присутствия у них каталазы и коагулазы, наличию лецитиназы на питательных средах с внесленной желточной эмульсией (агар Байрд-Паркера, маннит-солевой агар с желтком и др.) [14, 15].

Создатели основы бульона Жиолитти–Кантони рекомендовали использовать эту среду для выделения *S. aureus* при малой их численности в пищевых продуктах [16]. Зарубежные производители выпускают бульон Жиолитти–Кантони (Giolitti Cantoni Broth Base) для выделения *S. aureus* из пищевых продуктов, кормов для животных. В качестве белковой основы в средах используются пептон из казеина и говяжий экстракт. Российские стандарты для накопления коагулазоположительных стафилококков также регламентируют использование бульона Жиолитти–Кантони, обладающего высокими селективными свойствами для первичного выделения *S. aureus*, поэтому в настоящее время актуально его производство.

В связи с вышеизложенным целью исследования явилась разработка отечественного селективного бульона Жиолитти–Кантони для накопления и идентификации *S. aureus* и оценка его эффективности.

Материалы и методы исследования

Питательные среды. В исследовании использовали среды производства ФБУН ГНЦ ПМБ: среда для селективного обогащения *S. aureus* – бульон Жиолитти–Кантони; солевой бульон для выделения стафилококков сухой (ТУ 20.59.52-293-78095326-2018), основа агара Байрд–Паркера сухая (регистрационное удостоверение № РЗН 2018/7198). ГРМ–агар (регистрационное удостоверение № ФСР 2011/11415) использовали в качестве среды для контроля посевной дозы используемых тест–штаммов. Основу бульона Жиолитти–Кантони (Gioliitti Cantoni Broth Base производства HiMedia) с калия теллуритом 3,5% раствор FD047 использовали в качестве среды сравнения. В бульон Жиолитти–Кантони и агар Байрд–Паркера вносили селективную добавку – калия теллурит 2% раствор (производства ФБУН ГНЦ ПМБ) из расчета 2,5 мл на 1 л среды.

Эмульсию яичного желтка (для основы агара Байрд–Паркера) готовили по общепринятой методике согласно ГОСТ 31746-2012 [12].

Для создания анаэробных условий использовали стерильное вазелиновое масло (ООО «Тульская фармацевтическая фабрика»).

Посевы инкубировали 24–48 ч при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$.

Специфическую активность питательных сред оценивали в соответствии с МУК 4.2.2316–08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» [17]. Использовали рабочие разведения 10^{-6} – для тест–штаммов *S. aureus* «Виотко», *S. aureus* ATCC 6538-P, *S. aureus* Wood-46, *S. epidermidis* ATCC 14990. Для оценки ингибирующих свойств сред использовали культуры тест–штаммов *Escherichia coli* 3912/41 (O55:K59), *E. coli* ATCC 25922, *Enterococcus faecalis* ATCC 19433 (NCTC 775), *Bacillus cereus* ATCC 10702 (NCTC 8035), *Pseudomonas aeruginosa* 27/99, *Micrococcus luteus* ATCC 10240 из разведений 10^{-5} .

Тест–штаммы микроорганизмов получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ–Оболенск».

Эффективность среды – выход микробных клеток с 1 мл питательной среды и прирост числа микроорганизмов относительно засеянного (показатель эффективности) – определяли в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» [17].

Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе конструирования бульона Жиолитти–Кантони в качестве источника азотистого питания были исследованы разные белковые основы отечественных и зарубежных производителей: панкреатический гидролизат казеина (ПГК), панкреатический гидролизат рыбной муки (ПГРМ), ферментативный пептон, мясной пептон. Использовали следующие комбинации белковых основ: ПГК (9,0 г/л), ПГК (4,5 г/л) с мясным экстрактом (4,5 г/л), ПГК с различными

пептонами в соотношениях 1:1, ПГРМ (9,0 г/л), ПГРМ с различными пептонами в соотношениях 1:1. Концентрации остальных компонентов (дрожжевой экстракт – 5,0; маннит – 20,0; натрий хлористый – 5,0; литий хлористый – 5,0; глицин – 1,2; натрия пируват – 3,0) соответствовали составу, представленному в ГОСТ 31746.

После посева всех тест–штаммов на поверхность каждой пробирки со средой осторожно настилали слой стерильного вазелинового масла в количестве 0,5 мл.

При биологическом контроле на предварительных составах экспериментальных вариантов бульонов Жиолитти–Кантони рост стафилококков определяли по диффузному помутнению и почернению.

Характер роста стафилококков на бульонах Жиолитти–Кантони с использованием различных питательных основ представлен в табл. 1.

На всех вариантах с использованием различных белковых основ полностью подавлен рост *E. coli* 3912/41 (O55:K59), *E. coli* ATCC 25922, *P. aeruginosa* 27/99, *M. luteus* ATCC 10240, *E. faecalis* ATCC 19433 (NCTC 775), *B. cereus* ATCC 10702 (NCTC 8035) и частично (придонный рост) *P. vulgaris* НХ 19 222 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-5} через 24–48 ч инкубации при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Отсутствие/наличие роста подтверждалось высевом 0,1 мл культуральной жидкости на ГРМ–агар.

По ростовым свойствам тест–штаммов *S. aureus* «Виотко», *S. aureus* ATCC 6538-P, *S. aureus* Wood-46 предварительный положительный результат экспериментальных образцов бульона Жиолитти–Кантони был получен при использовании в составе среды комбинации ПГРМ с мясным пептоном.

На втором этапе разработки этой среды целесообразно было создание сухой основы среды, которая бы отвечала предъявляемым требованиям к средам данного назначения (хорошие ростовые свойства представителей *S. aureus* при максимальном подавлении нежелательной микрофлоры, предположительно присутствующей в образцах), поэтому дополнительно были изучены основы ПГРМ с твином (1,0 мл/л).

В процессе изучения применяли полный факторный эксперимент (ПФЭ) для выбора оптимальной комбинации белковых основ. Каждая матрица ПФЭ включала от двух до трех факторов. Применением ПФЭ был доказан оптимальный выбор соотношения белковых компонентов в бульоне Жиолитти–Кантони для получения более высокой эффективности.

Твин-80, выступающий в роли нейтрализатора фенолов, гексахлорофена и формалина и необходимый в среде как стимулятор роста стафилококков, промышленностью производится в жидкой форме в виде маслянистой, достаточно вязкой жидкости. Поэтому в ходе работ была изучена возможность получения сухой основы: ПГРМ высушенного с твином – модифицированного (ПГРМ–ТВмод) с целью создания стандартной сухой питательной среды. В результате проведенных исследований скорректировано содержание в основе ПГРМ и твина в соотношении 8:1. С отработкой технологии высушивания ПГРМ с твином была решена задача получения сухой основы – панкреатического гидролизата рыбной муки с твином модифицированного сухого (ПГРМ–ТВмод) для бульона Жиолитти–Кантони.

Таблица 1. Рост тест-штаммов *S. aureus* «Виотко», *S. aureus* ATCC 6538-P, *S. aureus* Wood-46, *S. epidermidis* ATCC 14990 на бульонах Жиолитти–Кантони с использованием различных питательных основ
 Table 1. Growth of test strains *S. aureus* «Viotko», *S. aureus* ATCC 6538-P, *S. aureus* Wood-46, *S. epidermidis* ATCC 14990 in Giolitti–Cantoni broths using different nutrient bases

Основа питательной среды / Basis of the nutrient medium	<i>S. aureus</i> «Виотко»	<i>S. aureus</i> ATCC 6538-P	<i>S. aureus</i> Wood-46	<i>S. epidermidis</i> ATCC 14990
	Разведение 10 ⁶ / Dilution 10 ⁶			
ПГК / <i>Pancreatic Casein Hydrolysate</i> (PCH)	Слабый рост, незначительное почернение осадка / <i>Poor growth slight blackening of sediment</i>	Слабый рост, незначительное почернение осадка / <i>Poor growth slight blackening of sediment</i>	Слабый рост, незначительное почернение осадка / <i>Poor growth slight blackening of sediment</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>
ПГК с мясным экстрактом (1:1) / <i>PCH with meat Extract</i>	Слабый рост, незначительное почернение осадка / <i>Poor growth slight blackening of sediment</i>	Слабый рост, незначительное почернение осадка / <i>Poor growth slight blackening of sediment</i>	Слабый рост, незначительное почернение осадка / <i>Poor growth slight blackening of sediment</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>
ПГК с мясным пептоном (1:1) / <i>PCH with meat peptone (1:1)</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>
ПГРМ / <i>Pancreatic Hydrolysate of fish meal</i> (PCFM)	Слабый рост, слабое почернение осадка / <i>Poor growth blackening of sediment</i>	Слабый рост, слабое почернение осадка / <i>Poor growth blackening of sediment</i>	Слабый рост, слабое почернение осадка / <i>Poor growth blackening of sediment</i>	Слабый рост, незначительное почернение осадка / <i>Poor growth slight blackening of sediment</i>
ПГРМ с мясным пептоном (1:1) / <i>PCFM with meat peptone (1:1)</i>	Диффузный рост, помутнение среды, черный осадок / <i>Diffuse growth, turbidity, black precipitate</i>	Диффузный рост, помутнение среды, черный осадок / <i>Diffuse growth, turbidity, black precipitate</i>	Диффузный рост, помутнение среды, черный осадок / <i>Diffuse growth, turbidity, black precipitate</i>	Слабый рост, незначительное почернение осадка / <i>Poor growth slight blackening of sediment</i>
Мясной пептон / <i>Meat peptone</i>	Диффузный рост, помутнение, черный осадок / <i>Diffuse growth, turbidity, black precipitate</i>	Диффузный рост, помутнение, черный осадок / <i>Diffuse growth, turbidity, black precipitate</i>	Диффузный рост, помутнение, черный осадок / <i>Diffuse growth, turbidity, black precipitate</i>	Слабый рост, незначительное почернение осадка / <i>Poor growth slight blackening of sediment</i>
Ферментативный пептон / <i>Enzymatic peptone</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>	Рост отсутствует / <i>No growth</i>
Контроль посевной дозы / <i>Seed dose control</i>	Количество колоний (среднее значение) / <i>Number of colonies (average)</i>			
ГРМ-агар / <i>Hydrolyzed fishmeal agar</i>	71, типичная морфология / <i>71 typical morphology</i>	64, типичная морфология / <i>64 typical morphology</i>	67, типичная морфология / <i>67 typical morphology</i>	73, типичная морфология / <i>73 typical morphology</i>

По результатам экспериментов составлена пропись бульона Жиолитти–Кантони в г/л:

ПГРМ-ТВмод	9,0
Пептон мясной	3,0
Дрожжевой экстракт	5,0
Д-маннит	20,0
Натрий хлористый	5,0
Литий хлористый	5,0
Глицин	1,2
Натрия пируват	3,0
2%-й р-р теллурита калия	2,5 мл
pH = 6,8–7,2.	

На следующем этапе исследований был проведен сравнительный анализ биологических показателей качества с использованием минимального набора тест-штаммов, наиболее ярко характеризующих назначение разработанного бульона Жиолитти–Кантони и коммерческого аналога Giolitti Cantoni Broth Base (HiMedia).

После инкубации посевов в течение 24–48 ч в бульоне Giolitti Cantoni Broth рост всех тест-штаммов *S. aureus* «Виотко», *S. aureus* ATCC 6538-P, *S. aureus* Wood-46, *S. epidermidis* ATCC 14990 визуально обнаруживался во всех засеянных пробирках. Кроме того, почернение бульона наблюдалось и в пробирках с посевами тест-штаммов *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* 3912/41 (O55:K59) и *M. luteus* ATCC 10240, что затрудняло интерпретацию результатов.

Разработанный бульон Жиолитти–Кантони обеспечивал хороший рост тест-штаммов *S. aureus* «Виотко», *S. aureus* ATCC 6538-P, *S. aureus* Wood-46 уже через 24 ч инкубации посевов в виде почернения среды, тест-штамма *S. epidermidis* ATCC 14990 в виде незначительного черного преципитата на дне пробирки – через 48 ч.

Бульоны Жиолитти–Кантони и Giolitti Cantoni Broth подавляли рост тест-штаммов *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* 3912/41 (O55:K59) и *M. luteus* ATCC 10240 при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10⁻⁵ через 48 ч инкубации при температуре 37 ± 1 °C, что было подтверждено последующим высевом по 0,1 мл культуральной жидкости на ГРМ-агар.

Высокая степень ингибиции сопутствующих микроорганизмов в бульоне Жиолитти–Кантони обусловлена наличием хлорида лития и теллурита калия, а наличие в среде маннита и глицина компенсирует действие ингибиторов на стафилококки. За счет внесения стерильного вазелинового масла в среду создается анаэробноз, в следствие чего тормозится рост *Micrococcus* spp.

Результаты биологического контроля бульонов Жиолитти–Кантони с добавлением теллурита калия считали отрицательным для золотистого стафилококка, если не наблюдалось почернения среды. Почернение бульона по всему объему среды указывало на присутствие *S. aureus*. Для подтверждения присутствия патогенных стафилококков из по-

Таблица 2. Сравнительная характеристика показателей эффективности селективных бульонов для накопления стафилококков
 Table 2. Comparative characteristics of the effectiveness indicators of selective broths for the accumulation of staphylococci

Наименование тест-штаммов / Name of test strains	Время культивирования, ч / Cultivation time, h	Giolitti Cantoni Broth Base (Hi Media)	Бульон Жиолитти–Кантони	Солевой бульон / Salt broth	Коэффициент эффективности / Efficiency factor		
		1-й вариант / 1 option	2-й вариант / 2 option	3-й вариант / 3 option	1-й вариант / 1 option	2-й вариант / 2 option	3-й вариант / 3 option
<i>S. aureus</i> «Виотко»	0	5	3	4	16	19	30
	6	80	58	120			
<i>S. aureus</i> ATCC 6538-P	0	12	7	13	15	29	38
	6	180	200	494			
<i>S. aureus</i> Wood-46	0	2	1	2	8	9	20
	6	16	9	40			

Средний разброс значений коэффициента эффективности составляет 10% (в пределах погрешностей опыта). / The average spread of the efficiency coefficient values is 10% (within the experimental error).

Показатели эффективности селективных питательных сред для накопления стафилококков /
 Indicators of the effectiveness of selective nutrient media for the accumulation of staphylococci

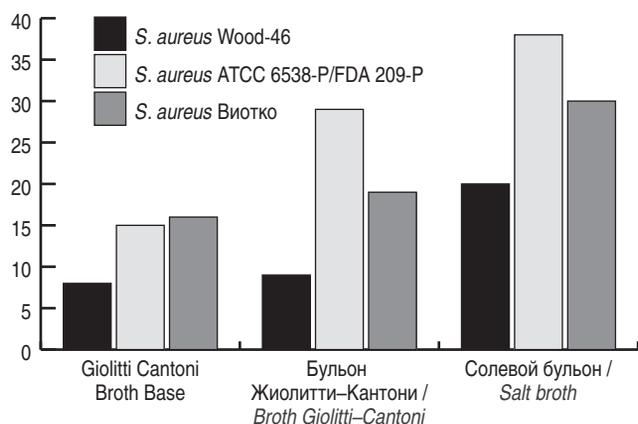


Рисунок. Сравнительная характеристика показателей эффективности селективных бульонов для накопления стафилококков.

Figure. Comparative characteristics of the effectiveness of selective broths for the accumulation of staphylococci.

черневших пробирок суспензию наносили штрихами на среду для выделения стафилококков – агар Байрд–Паркера; посеvy инкубировали при 37°C в течение 24–48 ч. Результат считали положительным при наличии черных колоний, окруженных прозрачной зоной протеолиза.

При выявлении коагулазоположительных стафилококков в пищевых продуктах в качестве накопительных питательных сред действующие нормативные документы регламентируют использование глюкозного бульона, солевого бульона или бульона Жиолитти–Кантони. В ходе выполнения работ при разработке бульона Жиолитти–Кантони в сравнении с средой Giolitti Cantoni Broth (HiMedia) и солевым бульоном были определены коэффициенты эффективности в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред».

Для получения данных по определению показателя эффективности бульона из засеянных пробирок каждого тест-штамма, содержащих 100 м.кл./мл (нулевой посев), производили высев по 0,1 мл микробной взвеси на чашки Петри с

ГРМ-агаром. После инкубации засеянных бульонов через 6 ч также высевали на ГРМ-агар (по 0,1 мл на чашку). Через 18–20 ч инкубации посевов на ГРМ-агаре при температуре 37 ± 1°C производили подсчет сформировавшихся колоний. Показатель эффективности рассчитывали по отношению числа колоний после инкубации культуры в накопительной среде к числу колоний при нулевом посеве.

Сравнительная характеристика показателей эффективности различных бульонов для накопления стафилококков представлена на рисунке и в табл. 2.

Результаты коэффициентов эффективности накопления стафилококков в разработанном бульоне Жиолитти–Кантони превосходили коммерческую в 1,2–1,9 раза, но уступали солевому бульону.

Бульоны Жиолитти–Кантони в данном исследовании имели преимущество, так как обеспечивали рост тест-штаммов *S. aureus* «Виотко», *S. aureus* ATCC 6538-P и *S. aureus* Wood-46 с почернением среды. Изменение цвета бульона Жиолитти–Кантони в предварительном фенотипическом тесте позволяет выделять и дифференцировать патогенные стафилококки.

Выводы

Таким образом, разработанный отечественный селективный бульон Жиолитти–Кантони с использованием модифицированной основы ПГРМ высушенной с твином, обладающий высокой чувствительностью в отношении коагулазоположительных стафилококков, позволит ускорить идентификацию стафилококков уже на этапе первичного посева.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The research was supported by the Rospotrebnadzor industry program.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Бородина ЕС, Богданова ОЮ. Микробиологические исследования пищевых продуктов на наличие бактерий рода *Staphylococcus*. Успехи современного естествознания. 2011;8:24.
2. Шамсутдинов АФ, Тюрин ЮА. Белковые токсины *Staphylococcus aureus*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2014;2:113-120.
3. Watkins RR, David MZ, Salata RA. Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol. 2012 Sep;61(Pt 9):1179-1193. DOI: 10.1099/jmm.0.043513-0
4. Chen L, Yang J, Yu J, Yao Z, Sun L, Shen Y, et al. VFDB: a reference database for bacterial virulence factors. Nucleic Acids Res. 2005 Jan 1;33(Database issue):D325-8. DOI: 10.1093/nar/gki008
5. Ющук НД, Мартынов ЮВ, Кухтевич ЕВ, Кулагин МГ. Пищевые токсикоинфекции. Пищевые отравления. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017.
6. Betley MJ, Borst DW, Regassa LB. Staphylococcal enterotoxins, toxic shock syndrome toxin and streptococcal pyrogenic exotoxins: a comparative study of their molecular biology. Chem Immunol. 1992;55:1-35.
7. Larkin EA, Carman RJ, Krakauer T, Stiles BG. *Staphylococcus aureus*: the toxic presence of a pathogen extraordinaire. Curr Med Chem. 2009;16(30):4003-19. DOI: 10.2174/092986709789352321
8. Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. Biomed Res Int. 2014;2014:827965. DOI: 10.1155/2014/827965
9. Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet Mol Res. 2003 Mar 31;2(1):63-76.
10. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарные правила и нормативы. СанПиН 2.3.2.1078–01. Введ. 2002-07-01. М., 2002.
11. ГОСТ 30347-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*». М.: Стандартинформ, 2016.
12. ГОСТ 31746-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*. Межгосударственный стандарт. Введ. 2013-07-01. М.: Стандартинформ, 2013.
13. Полосенко ОВ, Шепелин АП, Ажержачева НИ, Абаев ИВ. Клинические испытания новых питательных сред для выделения стафилококков. Клиническая лабораторная диагностика. 2021;66(2):115-121. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-2-115-121
14. Боталов НС, Чепкасова НИ, Некрасова ЮЭ. Методы выявления и определения количества *Staphylococcus aureus* в пищевых продуктах. Международный студенческий научный вестник. 2018;5:37.
15. Микробиологический контроль качества пищевой продукции. Коллективная монография. Под ред. Поповой АЮ, Дятлова ИА. М.: Династия, 2020; 96-102.
16. Giolitti G, Cantoni C. A medium for the isolation of staphylococci from foodstuffs. J Appl Bacteriol. 1966 Aug;29(2):395-8. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1966.tb03488.x
17. МУК 4.2.2316–08 Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы контроля бактериологических питательных сред. Методические указания. Введ. 2008-01-18. М.: Федеральный центр гигиены и эпиднадзора Роспотребнадзора, 2008.

References

1. Borodina ES, Bogdanova OYu. Microbiological studies of food products for the presence of bacteria of the genus *Staphylococcus*. Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya. 2011;8:24. (In Russian).
2. Shamsutdinov AF, Tyurin YuA. Protein toxins of *Staphylococcus aureus*. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. 2014;2:113-120. (In Russian).

3. Watkins RR, David MZ, Salata RA. Current concepts on the virulence mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Med Microbiol. 2012 Sep;61(Pt 9):1179-1193. DOI: 10.1099/jmm.0.043513-0
4. Chen L, Yang J, Yu J, Yao Z, Sun L, Shen Y, et al. VFDB: a reference database for bacterial virulence factors. Nucleic Acids Res. 2005 Jan 1;33(Database issue):D325-8. DOI: 10.1093/nar/gki008
5. Yushchuk ND, Martynov YuV, Kukhtevich EV, Kulagin MG. Pishchevye toksikoinfektsii. Pishchevye otravleniya. M.: GEOTAR-Media Publ., 2017. (In Russian).
6. Betley MJ, Borst DW, Regassa LB. Staphylococcal enterotoxins, toxic shock syndrome toxin and streptococcal pyrogenic exotoxins: a comparative study of their molecular biology. Chem Immunol. 1992;55:1-35.
7. Larkin EA, Carman RJ, Krakauer T, Stiles BG. *Staphylococcus aureus*: the toxic presence of a pathogen extraordinaire. Curr Med Chem. 2009;16(30):4003-19. DOI: 10.2174/092986709789352321
8. Kadariya J, Smith TC, Thapaliya D. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: an ongoing challenge in public health. Biomed Res Int. 2014;2014:827965. DOI: 10.1155/2014/827965
9. Le Loir Y, Baron F, Gautier M. *Staphylococcus aureus* and food poisoning. Genet Mol Res. 2003 Mar 31;2(1):63-76.
10. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарные правила и нормативы. СанПиН 2.3.2.1078–01. Введ. 2002-07-01. М., 2002. (In Russian).
11. ГОСТ 30347-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*». М.: Стандартинформ Publ., 2016. (In Russian).
12. ГОСТ 31746-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*. Mezhdunarstvennyi standart. Vved. 2013-07-01. М.: Стандартинформ, 2013. (In Russian).
13. Polosenko OV, Shepelin AP, Azhermacheva NI, Abaev IV. Clinical trials of new culture media for staphylococcus isolation. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2021;66(2):115-121. DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-2-115-121 (In Russian).
14. Botalov NS, Chepkasova NI, Nekrasova YE. Methods of identification and determination of quantity of *Staphylococcus aureus* in foodstuffs. Mezhdunarodnyi studencheskii nauchnyi vestnik. 2018;5:37. (In Russian).
15. Mikrobiologicheskii kontrol' kachestva pishchevoi produktsii. Kollektivnaya monografiya. Pod red. Popovoi AYU, Dyatlova IA. M.: Dinastiya Publ., 2020; 96-102. (In Russian).
16. Giolitti G, Cantoni C. A medium for the isolation of staphylococci from foodstuffs. J Appl Bacteriol. 1966 Aug;29(2):395-8. DOI: 10.1111/j.1365-2672.1966.tb03488.x
17. МУК 4.2.2316–08 Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы контроля бактериологических питательных сред. Методические указания. Введ. 2008-01-18. М.: Federal'nyi tsentr gigieny i epidnadzora Rospotrebnadzora, 2008. (In Russian).

Информация о соавторах:

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

Сёмина Анастасия Юрьевна, младший научный сотрудник сектора микробиологических исследований ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Mikhail V. Khramov, PhD, MD, deputy director for quality and development, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Anastasia Yu. Semina, Junior Researcher, Microbiological Research Sector, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor