

Оценка эффективности применения ДагХром Клебсиелла агара

Р.Ю.Юнусова¹, В.Г.Горелова², Е.А.Воропаева¹, Е.И.Лиханская¹, Т.А.Скирда¹, А.М.Бичучер¹,
И.Г.Мартыненко¹, И.А.Полилова³, А.В.Мещерякова³, М.И.Глухова⁴, С.Ю.Комбарова¹

¹ФБУН «Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского» Роспотребнадзора, Москва, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Дагестанский государственный медицинский университет» Минздрава России, Махачкала, Российская Федерация;

³ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №2 Департамента здравоохранения г. Москвы», Российская Федерация;

⁴ОАНО ВО «Московский психолого-социальный университет», Москва, Российская Федерация

Бактерии рода *Klebsiella*, способные вызывать широкий спектр заболеваний, часто являются возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и отличаются высоким уровнем устойчивости к антибиотикам. Для своевременной постановки диагноза и проведения эффективных терапевтических и противоэпидемических мероприятий необходимо ускоренное выявление бактерий этого рода.

Целью работы явилась оценка эффективности применения хромогенной питательной среды ДагХром Клебсиелла агар для одноэтапного выделения и идентификации клебсиелл.

Материалы и методы. Исследовано 20 бактериальных культур, выделенных в ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №2 Департамента здравоохранения г. Москвы» при посеве клинического материала (мазки из носоглотки) от 20 пациентов с ВИЧ-инфекцией на среде Uriselect 4 (BioRad, США). Чистые культуры с Uriselect 4 пересеивали параллельно на среды Эндо и ДагХром Клебсиелла агар.

Результаты. При идентификации культур с помощью ДагХром Клебсиелла агара и предложенного алгоритма было установлено, что из 17 культур рода *Klebsiella* 15 культур относятся к виду *K. pneumoniae* и 2 культуры – к *K. oxytoca*. Исследование трех культур, не принадлежавших к роду *Klebsiella*, позволило идентифицировать их как *Serratia marcescens*.

Заключение. Предложен алгоритм идентификации клебсиелл до вида с использованием ДагХром Клебсиелла агара, значительно сокращающий время исследования по сравнению с использованием общепринятой среды Эндо (48 ч и 3–5 суток соответственно). ДагХром Клебсиелла агар имеет перспективу применения в практической бактериологии, поскольку значительно сокращает и упрощает исследование.

Ключевые слова: *Klebsiella*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. mobilis*, хромогенная питательная среда, условно-патогенные микроорганизмы, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, ДагХром Клебсиелла агар

Для цитирования: Юнусова Р.Ю., Горелова В.Г., Воропаева Е.А., Лиханская Е.И., Скирда Т.А., Бичучер А.М., Мартыненко И.Г., Полилова И.А., Мещерякова А.В., Глухова М.И., Комбарова С.Ю. Оценка эффективности применения ДагХром Клебсиелла агара. Бактериология. 2025; 10(3): 62–70. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-3-62-70

The prospects of using *Klebsiella* chrom agar in modern practical microbiology

R.Yu.Yunusova¹, V.G.Gorelova², E.A.Voropaeva¹, E.I.Likhanskaya¹, T.A.Skirda¹, A.M.Bichucher¹,
I.G.Martynenko¹, I.A.Polilova³, A.V.Meshcheryakova³, M.I.Glukhova⁴, S.Yu.Kombarova¹

¹G.N.Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор, Moscow, Russian Federation;

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

³Infectious Clinical Hospital No 2 of the Moscow Department of Health, Moscow, Russian Federation;

⁴Moscow Psychological and Social University, Moscow, Russian Federation

Для корреспонденции:

Юнусова Раисат Юнусовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории коковых инфекций Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора

Адрес: 125212, Москва, ул. Адмирала Макарова, 10

Статья поступила 17.01.2025, принята к печати 30.09.2025

For correspondence:

Raisat Yu. Yunusova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Coccal Infections, G.N.Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rosпотребнадзор

Address: 10 Admiral Makarov str., Moscow, 125212, Russian Federation

The article was received 17.01.2025, accepted for publication 30.09.2025

The *Klebsiella* bacteria, which can cause a wide range of diseases, are often the cause of healthcare-associated infections, and have a high level of antibiotic resistance. For a timely diagnosis and effective therapeutic measures, the accelerated detection of this bacteria species is necessary.

The purpose of the work was to evaluate the effectiveness of the chromogenic medium DagChrom *Klebsiella* agar for the one-step isolation and identification of *Klebsiella* species.

Materials and methods. Twenty bacterial cultures isolated at the Infectious Clinical Hospital No 2 of Moscow by seeding clinical material (nasopharyngeal swabs) from 20 patients with HIV infection on the Uriselect 4 medium (BioRad, USA) were studied.

Results. When identifying the cultures using DagChrom *Klebsiella* agar and the proposed algorithm, it was determined that of the 17 *Klebsiella* strains, 15 belonged to *K. pneumoniae* and 2 – to *K. oxytoca*. Three strains, which do not belong to the *Klebsiella*, were identified as *Serratia marcescens*.

Conclusion. A proposed identification algorithm for *Klebsiella* species using DagChrom *Klebsiella* agar significantly reduces the time for identification compared to the commonly used Endo medium (48 hours versus 3–5 days, respectively). DagChrom *Klebsiella* agar has a prospect of application for practical bacteriology applications as it significantly reduces and simplifies the study.

Key words: bacteria of the genus *Klebsiella*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. mobilis*, chromogenic culture medium, opportunistic microorganisms, healthcare-associated infections, DagChrom *Klebsiella* Agar

For citation: Yunusova R.Yu., Gorelova V.G., Voropaeva E.A., Likhanskaya E.I., Skirida T.A., Bichucher A.M., Martynenko I.G., Polilova I.A., Meshcheryakova A.V., Glukhova M.I., Kombarova S.Yu. The prospects of using *Klebsiella chrom agar* in modern practical microbiology. Bacteriology. 2025; 10(3): 62–70. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-3-62-70

Бактерии рода *Klebsiella* – убиквитарные микроорганизмы, входящие в состав факультативной микрофлоры желудочно-кишечного тракта и верхних дыхательных путей. В определенных условиях они способны стать этиологическими агентами ряда инфекций у взрослых и детей, как госпитальных (пневмония, катетер-ассоциированные и хирургические инфекции, инфекции мочеполового тракта, менингит, бактериемия), так и внегоспитальных (пневмония, инфекции мочеполового тракта, абсцесс печени, бактериемия) [1–3]. Основными возбудителями заболеваний человека из представителей рода *Klebsiella* являются *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* и *K. mobilis*. Наибольшую значимость представляет *K. pneumoniae*, ответственная за 75–86% всех случаев клебсиеллезных инфекций [4].

K. pneumoniae относится к числу ESKAPE-патогенов (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp.), отличающихся высоким уровнем устойчивости к антибиотикам. Эти бактерии являются возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), и могут быть смертельно опасны для людей в критическом состоянии и с ослабленным иммунитетом. Широкое распространение ИСМП, вызванных клебсиеллами, наносит значительный ущерб здоровью новорожденных и населения в целом, экономике и демографической ситуации в разных странах [5]. В последние годы многие штаммы *K. pneumoniae* приобрели способность продуцировать ферменты – β-лактамазы, у некоторых отмечается наличие суперфермента, известного как NDM-1, кодируемого геном *blaNDM-1*, что увеличило их устойчивость к пенициллину, цефалоспорином и карбапенемам. Растущая распространенность устойчивых к карбапенемам *K. pneumoniae* представляет собой серьезную проблему [6–9].

Пандемия, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2, показала, что значимой причиной летальных исходов у людей, перенесших COVID-19, стали внутрибольничные инфекции. Было отмечено, что 30% пациентов умирали в первые 3 дня от дыхательной недостаточности, 70% умирали позже от сепсиса, вызванного внутрибольничной инфекцией. Наибольшую опасность среди возбудителей внутрибольничной инфекции, относящихся к грамотрица-

тельным микроорганизмам, представляли бактерии рода *Klebsiella* [10].

В связи с вышеизложенным актуальна разработка ускоренных и специфичных алгоритмов лабораторной диагностики бактерий рода *Klebsiella* с целью своевременного проведения эффективных терапевтических и противоэпидемических мероприятий. В частности, встает вопрос разработки и применения питательных сред нового поколения для ускоренного выделения и идентификации бактерий рода *Klebsiella*.

В мировой бактериологической практике широко используются хромогенные питательные среды (ХПС), принцип действия которых основан на выявлении высокоспецифичных ферментов у исследуемых микроорганизмов с помощью хромогенных субстратов. Экономический эффект колоссален – это сокращение времени выявления возбудителя и экономия трудовых и финансовых ресурсов. Однако ферментативные активности ксебсиелл, которые дают цветную реакцию, характерны и для других условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ), что требует постановки дополнительных идентификационных тестов.

Для идентификации клебсиелл в отечественных микробиологических лабораториях используют агар Эндо, на котором клебсиеллы, как и все бактерии группы кишечной палочки, вырастают одинаковыми колониями красного цвета, что значительно затрудняет выделение микробов в чистом виде и также требует постановки дополнительных идентификационных тестов.

Для специфического выявления клебсиелл используется дифференциально-элективная питательная среда производства ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора (Московская область, пос. Оболенск). Среда ингибирует рост грамположительных микроорганизмов и большинства представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Специфичность среды обеспечивают селективная добавка инозит и кислотно-основной индикатор. Клебсиеллы, утилизирующие инозит, формируют круглые, гладкие, слизистые колонии малинового цвета, в то время как бактерии рода *Escherichia* – бесцветные колонии. Наряду с клебсиеллами на среде возможен рост бактерий рода *Serratia*, которые бывает трудно отличить от клебсиелл при множественном росте колоний,

несмотря на то, что для сераций характерны колонии меньшего размера. В таких случаях необходимы дополнительные идентификационные тесты.

В то же время надо отметить, что в России разработаны ХПС для выявления бактерий рода *Klebsiella*. В Санкт-Петербурге на опытно-промышленном производстве ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера» Роспотребнадзора выпускается коммерческий набор питательной среды «Клебсиелла 5-АСК 20», предназначенный для одноэтапного выделения и одновременной идентификации бактерий рода *Klebsiella*. Идентификация бактерий основана на выявлении родоспецифического фермента клебсиелл – 5-аминосалицилатдекарбоксилазы (5-АСК), который продуцируют только бактерии рода *Klebsiella*. 5-АСК расщепляет хромогенный субстрат (5-аминосалициловую кислоту) с образованием парааминофенола. Последний под действием кислорода воздуха образует полимер темно-коричневого цвета, в результате чего исключительно колонии клебсиелл и среда вокруг них окрашиваются в коричневый цвет. Эта среда, предназначенная для научных исследований, состоит из набора реагентов, рассчитанного на приготовление 20 чашек [11]. К недостаткам этой среды можно отнести трудоемкость приготовления и небольшой срок годности.

В филиале АО «НПО Микроген» НПО «Питательные среды» г. Махачкалы разработана ХПС ДагХром Клебсиелла агар (КХА), сухая, которая также основана на выявлении 5-АСК. Определение физико-химических и биологических показателей качества среды КХА проводили согласно Методическим указаниям по контролю бактериологических питательных сред (МУК 4.2 2316-08) [12]. Специфичность КХА была продемонстрирована на примере 5 референс-штаммов рода *Klebsiella* (*K. pneumoniae* 3534/51, *K. oxytoca* 3530/50, *K. mobilis* (*Enterobacter aerogenes*) 418, *K. rhinoscleromatis* ATCC 13884, *K. ozaenae* ATCC 11298) и 4 бактерий других родов (*Citrobacter freundii* 101/57, *Serratia marcescens* CCM 303, *Escherichia coli* Su 3912/41 O55 K:59, *Enterobacter cloacae* 10005). Среда позволяет за 24 ч инкубации посевов одноэтапно выделить и идентифицировать род *Klebsiella*. Предлагаемая среда стандартизована, получена в сухом виде, что представляет значительные удобства при использовании ее в сравнении со средами лабораторного приготовления [13].

Целью настоящей работы явилась оценка эффективности применения ДагХром Клебсиелла агара для одноэтапного выделения и идентификации бактерий рода *Klebsiella* с целью определения перспектив ее использования в практической бактериологии.

Материалы и методы

Исследовано 20 бактериальных культур, выделенных в ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №2 Департамента здравоохранения г. Москвы» при посеве клинического материала (мазки из носоглотки) от 20 пациентов с ВИЧ-инфекцией на ХПС Uriselect 4 (BioRad, США). Все эти культуры через 24 ч инкубации формировали на данной среде колонии от темно-голубого до голубого цвета, что свидетельствовало о возможной принадлежности к родам *Klebsiella*,

Enterobacter, *Serratia*, *Citrobacter* (триб KESC). Принадлежность колоний к конкретному роду и виду определяли с помощью тест-системы micro-lachema-test ENTEROtest 24 согласно инструкции производителя (Erba Lachema, Чехия).

Также для подтверждения видовой принадлежности, культуры, выросшие на Uriselect 4, засеивали на среду Эндо (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора, Московская обл., п. Оболенск). С целью идентификации клебсиелл до рода и вида выросшие колонии красного цвета, принадлежащие к семейству *Enterobacteriaceae*, исследовали с помощью дополнительных идентификационных тестов: засеивали на среды Гисса с углеводами, среды Олькеницкого, Кларка, Симмонса, мясопептонный агар (ФБУН «ГНЦ ПМБ» Роспотребнадзора, Московская обл., п. Оболенск), осуществляли постановку теста на индол с помощью реактива Ковача (НИЦФ, Санкт-Петербург) и теста на оксидазу с помощью тест-полосок (Erba, Чехия).

Параллельно чистые культуры с Uriselect 4 пересевали на КХА для дальнейшей оценки этой питательной среды. Обнаружение на КХА коричневых колоний с коричневым преципитатом свидетельствовало о принадлежности испытуемой культуры к роду *Klebsiella*. Уточнение видовой принадлежности проводили с помощью разработанного нами алгоритма.

Результаты исследования и их обсуждение

20 культур, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов ГБУЗ «Инфекционная клиническая больница №2 Департамента здравоохранения г. Москвы» и изначально отнесенных с помощью коммерческой среды Uriselect 4 к трибу KESC, были исследованы с помощью комплекса тестов с целью их дальнейшей идентификации до конкретного рода и вида (табл. 1).

По тесту подвижности к роду *Klebsiella* отнесено 16 культур (отсутствие подвижности). Среди культур рода *Klebsiella* идентифицировано 15 культур *K. pneumoniae* и одна культура *K. oxytoca*. Культура X1 не была отнесена к роду *Klebsiella*, так как не соответствовала по биохимическим тестам данному роду.

На среде Эндо все культуры выросли красного или ярко-розового цвета.

Те же 20 культур исследовали при посеве на среду КХА. Через 24 ч инкубации на среде КХА 17 выросших культур отнесли к роду *Klebsiella* по наличию коричневых колоний с коричневым преципитатом; 3 культуры, образовавшие зеленые колонии с желтым ореолом, не относились к данному роду (рис. 1, 2).

Для более детальной дифференциации выросших на КХА колоний предложен ранее разработанный алгоритм для идентификации до вида клинически-значимых условно-патогенных микроорганизмов (УПМ): *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. mobilis* (*E. aerogenes*), *K. ozaenae*, *K. rhinoscleromatis*, *E. coli*, *E. cloacae*, *C. freundii*, *S. marcescens*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Enterococcus faecalis*, *P. aeruginosa* [14]. Указанный алгоритм представлен в табл. 2. Культуры УПМ, выделенные на КХА, идентифицируют до вида с помощью дополнительных 9 тестов. Для этого производят посев культур в полужидкий агар (для

Таблица 1. Идентификация культур, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов
Table 1. Identification of cultures isolated from HIV-infected patients

№	Предполагаемая культура / <i>Proposed culture</i>	Питательные среды (цвет, диаметр и гемолиз вокруг колоний) / <i>Culture media (color, diameter and hemolysis around colonies)</i>			Тесты / Tests												
		UriSelect 4	Эндо	Кровяной агар / <i>Blood agar</i>	Тест на подвижность / <i>Motility test</i>	Образование индола / <i>Formation of indole</i>	Газообразование при расщеплении глюкозы / <i>Gas formation during the breakdown of glucose</i>	Утилизация цитрата / <i>Citrate disposal</i>	Утилизация малоната / <i>Disposal of malonate</i>	Утилизация сорбита / <i>Disposal of sorbitol</i>	Утилизация рамнозы / <i>Utilization of rhamnose</i>	Образование кислоты при ферментации лактозы / <i>Acid formation during lactose fermentation</i>	Образование кислоты при ферментации глюкозы / <i>Formation of acid during fermentation of glucose</i>	Реакция с метиловым красным / <i>Reaction with methyl red</i>	Продукция уреазы / <i>Urease production</i>	Образование H ₂ S / <i>H₂S formation</i>	
1-15	<i>K. pneumoniae</i>	Т-г	Я-р	d 3 мм, β-гемолиз	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	
16	<i>K. oxytoca</i>	Т-г	К	d 3 мм, γ-гемолиз	-	+	+	+, -	+	+	+	+	+	+, -	+	-	
17	Культура Х1	Т-г	Я-р	d 4 мм, γ-гемолиз	-	+	+	+, -	+	+	+	-	+	-	+	-	
18	Культура Х2	Г	Я-р	d 3 мм, γ-гемолиз	+	-	+	+, -	-	+	-	-	+	-, +	-	-	
19	Культура Х3	Г	Я-р	d 3 мм, β-гемолиз	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-, +	-	-	
20	Культура Х4	Г	Я-р	d 3 мм, β-гемолиз	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-, +	-	-	
Референс-штамм / <i>Reference strain</i>																	
1	<i>E. coli</i> 3912/41	Р	К	d 3 мм, γ-гемолиз	+, -	+	+	-	-	+	(+)	+	+	+	-	-	
2	<i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603	Т-г	К	d 3 мм, γ-гемолиз	-	-, +	+	+	+	+	+	+	+	-, +	+	-	
3	<i>K. oxytoca</i> 3530/50	Т-г	К	d 3 мм, γ-гемолиз	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	(+)	-	
4	<i>K. mobilis</i> (<i>E. aerogenes</i> 418)	Г	К	d 3 мм, γ-гемолиз	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+, -	-	-	
5	<i>S. marcescens</i> CCM 303	Г	Р	d 1,5 мм, γ-гемолиз	+	-	-, +	+	-	+	-	-	+	-, +	-	-	
6	<i>E. cloacae</i> 10005	Т-г	К	d 3 мм, γ-гемолиз	+	-	+, -	+	+	+	+	+	+	-	-	-	
Т-г – темно-голубого цвета; Г – голубого цвета; К – красного цвета; Р – розового цвета; Я-р – ярко-розового цвета; «+» – положительная реакция в течение всего срока наблюдения; «–» – отрицательная реакция в течение всего срока наблюдения; «(+）」 – замедленная положительная реакция (после 24 ч); «+, -» – больше положительная реакция, чем отрицательная; «-, +» – больше отрицательная реакция, чем положительная. T-r – dark blue; G – light blue; K – red; P – pink; Я-p – bright pink; “+” – positive reaction throughout the entire observation period; “–” – negative reaction throughout the entire observation period; “(+)” – delayed positive reaction (after 24 hours); “+, -” – more positive reaction than negative; “-, +” – more negative reaction than positive.																	

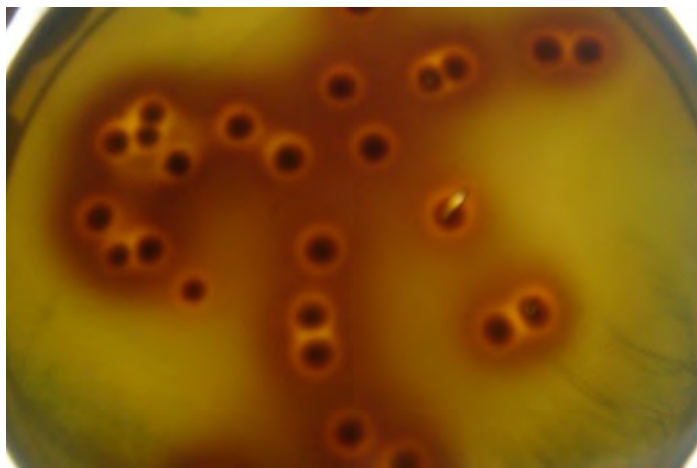


Рис. 1. Рост бактерий рода *Klebsiella* на среде КХА.
Fig. 1. Growth of *Klebsiella* bacteria on KCA medium.

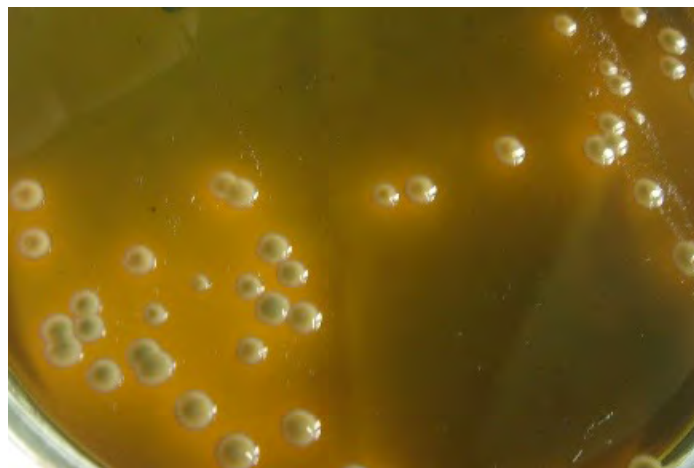


Рис. 2. Рост бактерий, не относящихся к роду *Klebsiella*, на среде КХА.
Fig. 2. Growth of non-*Klebsiella* bacteria on KCA medium.

Таблица 2. Алгоритм использования КХА и биохимических тестов для идентификации клебсиелл и других клинически значимых условно-патогенных микроорганизмов
Table 2. *DagChrome Klebsiella agar (KCA) and biochemical tests usage algorithm for the identification of Klebsiella spp. and other clinically significant opportunistic microorganisms*

№	Условно-патогенные микроорганизмы / Opportunistic pathogens	КХА (цвет и наличие преципитата вокруг колоний) / KCA (color and presence of precipitate around colonies)	Тест на подвижность / Наличие пигмента (цвет) / Motility test / Presence of pigment (color)	Образование индола / Formation of indole	Образование индола / Formation of indole	Газообразование при расщеплении глюкозы / Gas formation during the breakdown of glucose	Утилизация цитрата / Citrate disposal	Образование кислоты при ферментации лактозы / Acid formation during lactose fermentation	Образование кислоты при ферментации глюкозы / Formation of acid during fermentation of glucose	Образование H ₂ S / H ₂ S formation	Наличие цитохромоксидазы / Presence of cytochrome oxidase
1	<i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603	К, с коричневым преципитатом / with brown precipitate	-/-	-,+	+	+	+	+	+	-	-
2	<i>K. oxytoca</i> 3530/50	К, с коричневым преципитатом / with brown precipitate	-/-	+	+, -	+	+	+	+	-	-
3	<i>K. mobilis</i> (<i>E. aerogenes</i> 418)	К, с коричневым преципитатом / with brown precipitate	+/-	-	-	+	+	+	+	-	-
4	<i>K. ozaenae</i> ATCC 11298	К, с коричневым преципитатом / with brown precipitate	-/-	-	-	+	V	V	+	-	-
5	<i>K. rhinoscleromatis</i> ATCC 13884	К, с коричневым преципитатом / with brown precipitate	-/-	-	-	+	-	-	+	-	-
6	<i>E. coli</i> 3912/41	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/-	+, -	-	+, -	-	+, -	+	-	-
7	<i>E. cloacae</i> 10005	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/-	-	V	+	+	+	+	-	-
8	<i>C. freundii</i> ATCC 10053	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/-	-	V	+	+	+	+	+	-
9	<i>S. marcescens</i> CCM 303	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+(K), -	-	-, +	+, -	+	-	+	-	-
10	<i>P. mirabilis</i> 3177	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/-	-	+	+	+	-	+	+	-
11	<i>P. vulgaris</i> Hx19 222	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/-	+	+	+	+	-	+	+	-
12	<i>E. faecalis</i> 775	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/-	-	+	+	+	+	+	-	-
13	<i>P. aeruginosa</i> 68	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/ (C-3), -	-	+	-	-	-	+	-	+

К – коричневый; З – зеленый; «+» положительная реакция через 18–24 ч у 90% штаммов или более; «-» – отрицательная реакция в течение всего срока наблюдения у 90% штаммов или более; «V» – вариабельная реакция; «+, -» – чаще положительная, реже отрицательная реакция у 90% штаммов или более; «K» – чаще отрицательная, реже положительная реакция у 90% штаммов или более; «V» – вариабельная реакция; «+, -» – more often positive, less often negative reaction in 90% of strains or more; «-, +» – more often negative, less often positive reaction in 90% of strains or more.

постановки теста на подвижность и наличие пигмента), на среду Олькеницкого (для определения уреазы, образования кислоты при ферментации лактозы и глюкозы, газообразования при расщеплении глюкозы и образования H₂S) и цитратный агар Симмонса (для выявления утилизации цитрата), а также исследуют в тесте на образование индола (для проведения теста полоску фильтровальной бумаги кладут в отдельную чашку Петри и пропитывают реактивом Ковача. Стерильным аппликатором отбирают изолированные колонии ночной культуры с агаровой среды. Растирают инокулят на фильтровальной бумаге и наблюдают за изменением цвета. При положительном результате с реактивом

Ковача на бумаге в течение 30 с появляется яркое красное-розовое окрашивание, при отрицательной реакции бумага остается бесцветной). Наличие цитохромоксидазы (оксидазный тест) выявляли путем растирания микробной колонии по диагностической зоне соответствующей тест-полоски: оксидазоположительные бактерии в течение 30 с окрашивали тест-полоску в зоне нанесения образца от голубого до серо-синего, отсутствие изменения цвета или развитие окраски через ≥60 с расценивали как отрицательную реакцию (табл. 2).

С помощью анализа результатов посевов на КХА и результатов приведенных выше тестов проводили дальней-

Таблица 3. Видовая идентификация культур, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов, с помощью разработанного алгоритма использования КХА и биохимических тестов
Table 3. Species identification of cultures isolated from HIV-infected patients by means of KCA and biochemical tests usage algorithm

№	Идентифицированная культура / Identified culture	КХА (цвет и наличие преципитата вокруг колоний) / KCA (color and presence of precipitate around colonies)	Тест на подвижность / Наличие пигмента (цвет) Motility test/Presence of pigment (color)	Образование индола / Formation of indole	Продукция уреазы / Urease production	Газообразование при расщеплении глюкозы / Gas formation during the breakdown of glucose	Утилизация цитрата / Citrate disposal	Образование кислоты при ферментации лактозы / Acid formation during lactose fermentation	Образование кислоты при ферментации глюкозы / Formation of acid during fermentation of glucose	Образование H ₂ S / H ₂ S formation	Наличие цитохромоксидазы / Presence of cytochrome oxidase
1-15	<i>K. pneumoniae</i>	К, с коричневым преципитатом / with brown precipitate	-/-	-	+	-	+	+	+	-	-
16	<i>K. oxytoca</i>	К, с коричневым преципитатом / with brown precipitate	-/-	+	+	+	+, -	+	+	-	-
17	<i>K. oxytoca</i> (X1)	К, с коричневым преципитатом / with brown precipitate	-/-	+	+	+	+, -	-	+	-	-
18	<i>S. marcescens</i> (X2)	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/-	-	+	+	+, -	-	+	-	-
19	<i>S. marcescens</i> (X3)	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/-	-	+	+	+	-	+	-	-
20	<i>S. marcescens</i> (X4)	З, с желтым ореолом / with a yellow halo	+/-	-	+	+	+	-	+	-	-

К – коричневые; З – зеленые; «+» – положительная реакция через 18–24 ч; «-» – отрицательная реакция в течение всего срока наблюдения; «+, -» – больше положительная реакция, чем отрицательная.
K – brown; З – green; «+» – positive reaction after 18–24 hours; «-» – negative reaction during the entire observation period; «+, -» – more positive reaction than negative.

шую видовую идентификацию 20 культур, выделенных от ВИЧ-инфицированных пациентов (табл. 3).

При анализе посевов на КХА установлено, что 17 культур принадлежали к роду *Klebsiella* (определено по наличию колоний коричневого цвета с коричневым преципитатом) и 3 культуры (X2, X3, X4) не принадлежали к данному роду, так как формировали колонии другого цвета (зеленые с желтым ореолом).

Идентификация до вида 17 культур рода *Klebsiella* с помощью предложенного комплекса тестов позволила отнести 15 культур к виду *K. pneumoniae* и 2 культуры – к *K. oxytoca*, в т.ч. культуру X1. Исследование 3 культур (X2, X3, X4) зеленого цвета с желтым ореолом позволило идентифицировать их как *S. marcescens*.

В совокупности, включая посев на КХА и постановку биохимических тестов, на исследование потребовалось 48 ч, таким образом, экономия во времени очевидна. Более того, при использовании среды КХА и разработанного алгоритма достаточно было использовать только 9 дополнительных тестов. В то же время надо отметить, что благодаря обнаружению родоспецифического фермента, которым обладают 100% клебсиелл, при обнаружении коричневых колоний с коричневым преципитатом количество тестов можно уменьшить до трех в том случае, если стоит задача идентификация до вида только клебсиелл (достаточно тестов на подвижность, образование индола и продукцию уреазы).

Для сравнения, для родовой и видовой идентификации бактерий, выросших на среде UriSelect 4, использовано 12 дополнительных тестов, продолжительность исследования – от 3 до 5 суток. При этом, как указывалось выше, часто

УПЭ, обладающие схожими биохимическими свойствами, не соответствовали на 100% тому или иному виду по биохимическим признакам.

Ранее нами были проведены сравнительные испытания КХА и среды Эндо на примере клинического материала. Объектом исследований служили 624 образца мочи, 190 образцов мазков от больных, страдающих неспецифическими воспалительными заболеваниями гениталий, 138 образцов мазков от больных с ЛОР-заболеваниями и 150 образцов мокроты (всего 1102 образца). Идентификацию культур, выросших на среде КХА, проводили с использованием разработанного алгоритма, культуры со среды Эндо исследовали в соответствии с действовавшим в то время Приказом Министерства здравоохранения СССР №535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» [15]. На обеих средах были получены сопоставимые результаты по выделению 545 культур УПЭ. При этом только на КХА одновременно с выделением 125 (22,9%) культур были идентифицированы как бактерии рода *Klebsiella*. Результаты видовой идентификации также совпали и показали наличие 125 изолятов *K. pneumoniae*, 382 – *E. coli*, 4 – *E. cloacae*, 3 – *S. marcescens*, 3 – *C. freundii* и 28 – *P. mirabilis*. Для проведения видовой идентификации культур при использовании КХА потребовалось 48 ч, при использовании среды Эндо – от 3 до 5 суток [14].

Характеристика дифференцирующих свойств питательных сред UriSelect 4, Эндо и КХА при идентификации ряда бактерий семейства *Enterobacteriaceae* представлена в табл. 4.

Таблица 4. Специфичность питательных сред при выделении бактерий рода *Klebsiella* через 24 ч инкубации посевов при $t = 37,1^{\circ}\text{C}$ (на примере референс-штаммов)
Table 4. Specificity of nutrient media while isolating *Klebsiella* genus after 24 hours of incubation of crops at $t = 37.1^{\circ}\text{C}$ (using reference-strains as an example)

№	Референс-штаммы / Reference strains	Рост референс-штаммов на питательных средах / Growth of reference strains on nutrient media		
		UriSelect 4	Эндо	КХА
1	<i>E. coli</i> 3912/41	розовые колонии / pink colonies	красные колонии с металлическим блеском или без него / red colonies with or without metallic sheen	зеленые колонии с желтым ореолом / green colonies with a yellow halo
2	<i>K. pneumoniae</i> ATCC® 700603	темно-голубые или голубые колонии / dark blue or blue colonies	красные колонии с металлическим блеском или без него / red colonies with or without metallic sheen	коричневые колонии с коричневым преципитатом / brown colonies with brown precipitate
3	<i>K. oxytoca</i> 3530/50	темно-голубые или голубые колонии / dark blue or blue colonies	красные колонии с металлическим блеском или без него / red colonies with or without metallic sheen	коричневые колонии с коричневым преципитатом / brown colonies with brown precipitate
4	<i>K. mobilis</i> (<i>E. aerogenes</i> 418)	темно-голубые или голубые колонии / dark blue or blue colonies	красные колонии с металлическим блеском или без него / red colonies with or without metallic sheen	коричневые колонии с коричневым преципитатом / brown colonies with brown precipitate
5	<i>K. ozaenae</i> ATCC 11298	темно-голубые или голубые колонии / dark blue or blue colonies	красные колонии с металлическим блеском или без него / red colonies with or without metallic sheen	коричневые колонии с коричневым преципитатом / brown colonies with brown precipitate
6	<i>K. rhinoscleromatis</i> ATCC 13884	темно-голубые или голубые колонии / dark blue or blue colonies	красные колонии с металлическим блеском или без него / red colonies with or without metallic sheen	коричневые колонии с коричневым преципитатом / brown colonies with brown precipitate
7	<i>E. cloacae</i> 10005	темно-голубые или голубые колонии / dark blue or blue colonies	красные колонии с металлическим блеском или без него / red colonies with or without metallic sheen	зеленые колонии с желтым ореолом / green colonies with a yellow halo
8	<i>C. freundii</i> ATCC 10053	темно-голубые или голубые колонии / dark blue or blue colonies	красные колонии с металлическим блеском или без него / red colonies with or without metallic sheen	зеленые колонии с желтым ореолом / green colonies with a yellow halo
9	<i>S. marcescens</i> CCM 303	темно-голубые или голубые колонии / dark blue or blue colonies	бесцветные или бледно-розовые колонии / colorless or pale pink colonies	зеленые колонии с желтым ореолом / green colonies with a yellow halo

Сравнительное изучение питательных сред показало преимущество среды КХА при идентификации бактерий рода *Klebsiella* в сравнении со средами Uriselect 4 и Эндо.

Заключение

При проведении микробиологических исследований важным условием является быстрота получения результатов, что не вызывает сомнений. Использование хромогенных питательных сред позволяет ускорить процесс выявления и идентификации возбудителя. На российском рынке питательных сред значительно уменьшилось количество зарубежных хромогенных питательных сред в связи с повышением цен, а также проблем с логистикой, а отечественные хромогенные питательные среды для одноэтапного выявления микроорганизмов различных таксономических групп используются пока только для научных исследований и не внедрены в практику здравоохранения. Это приводит к значительному увеличению времени и затрат на установление этиологического агента инфекционного процесса.

На предлагаемой к использованию среде КХА бактерии рода *Клебсиелл* выявляются через 24 ч инкубации. Далее для

внутривидовой идентификации достаточно провести всего 2 теста – на индол и подвижность, на что требуется 18–24 ч. На импортной хромогенной среде UriSelect 4 через 24 ч выявляются бактерии триба KESC, поэтому *Клебсиеллы* необходимо сначала дифференцировать от представителей родов *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* и только потом провести внутривидовую идентификацию. Для этого нужно несколько суток.

Что касается среды Эндо, то на ней одинаково выделяют все БГКП. Для дифференциации *Клебсиелл* также необходимо большое количество идентификационных тестов, на что требуется от 3 до 5 суток.

Таким образом, только на среде КХА можно выявить бактерии рода *Klebsiella* в один этап в течение 24 ч, поскольку среда основана на выявлении родоспецифического фермента *Клебсиелл*, и затем плюс еще 24 ч для проведения внутривидовой идентификации с использованием двух тестов.

Кроме того, с помощью КХА и предложенного нами алгоритма можно идентифицировать и другие клинически значимые микроорганизмы, не относящиеся к роду *Клебсиелл*, в течение 48 ч.

Результаты, полученные при проведении данного исследования, открывают перспективы применения отечествен-

ной среды ДагХром Клебсиелла агар для выявления бактерий рода *Klebsiella*. Сравнительное изучение идентификации клебсиелл на различных питательных средах показало, что применение среды КХА, основанной на выявлении родоспецифичного фермента клебсиелл – 5-аминосалицилатдекарбоксилазы, позволяет значительно ускорить и упростить обнаружение этих микроорганизмов. Предложенный алгоритм идентификации клебсиелл до вида позволит сократить время (получение результата через 48 ч), стоимость микробиологического исследования и упростить работу практических бактериологов. На разработанную питательную среду ДагХром Клебсиелла агар получен патент [13].

Важно отметить, что среду КХА можно использовать в проведении комплексных микробиологических диагностических исследованиях УПМ.

Дальнейшие разработки будут направлены на замещение импортного хромогенного субстрата – 5-аминосалициловой кислоты – на отечественный, что существенно снизит себестоимость среды (примерно на 50%) и позволит создать полностью отечественную разработку.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectoral program of Rosпотребнадзор.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Бондаренко ВМ, Фиалкина СВ, Агапова ОВ. Клебсиеллы и клебсиеллезы. Тверь: Триада, 2008.
2. Николаева ИВ, Семенова ДР, Шайхиева ГС. Современные представления о клебсиеллезной инфекции у детей. Российский вестник перинатологии и педиатрии. 2023;68(5):22-29. DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-5-22-29
3. Чеботарь ИВ, Бочарова ЮА, Подопригора ИВ, Шагин ДА. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020;22(1):4-19. DOI: 10.36488/cmasc.2020.1.4-19
4. Cubero M, Grau I, Tubau F, Pallarés R, Domínguez MÁ, Liñares J, et al. Molecular Epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* Strains Causing Bloodstream Infections in Adults. Microb Drug Resist. 2018 Sep;24(7):949-957. DOI: 10.1089/mdr.2017.0107
5. Кузьменко СА, Брежнева НИ, Гончаров АЕ, Тутельян АВ. Характеристика свойств внутрибольничной популяции *Klebsiella pneumoniae*. Фундаментальная и клиническая медицина. 2019;4(2):58-65. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-2-58-65
6. Смирнова МВ, Артемук СД, Белькова ЕИ, Мельцер АА, Козлова НС, Тимирбаева ОЮ, и др. Антибиотикорезистентность штаммов энтеробактерий, выделенных из крови. Медицина: теория и практика. 2019;4(3):91-98.
7. Комисарова ЕВ, Воложанцев НВ. Гипервирулентная *Klebsiella pneumoniae* – новая инфекционная угроза. Инфекционные болезни. 2019;17(3):81-89. DOI: 10.20953/1729-9225-2019-3-81-89

8. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *blaNDM-1*, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother. 2009 Dec;53(12):5046-54. DOI: 10.1128/AAC.00774-09
9. De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. Clin Microbiol Rev. 2020 May 13;33(3):e00181-19. DOI: 10.1128/CMR.00181-19
10. Быков АО, Суворова МП, Проценко ДН, Яковлев СВ, Игнатенко ОВ, Бурмистрова ЕН, и др. Анализ структуры бактериемий и чувствительности к антибиотикам микроорганизмов, выделенных в отделениях реанимации и интенсивной терапии в скорпомощном стационаре в период с 2003 по 2021 г.: ретроспективное наблюдательное исследование. Вестник интенсивной терапии им. А.И.Салтанова. 2023;2:55-65. DOI: 10.21320/1818-474X-2023-2-55-65
11. Сиволодский ЕП. Хромогенная синтетическая среда «Клебсиелла 5-АСК хром-С» для выделения и идентификации клебсиелл. Клиническая лабораторная диагностика. 2015;60(5):48-51.
12. 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.
13. Патент №2416635 С2 Российская Федерация, МПК C12N 1/20, C12Q 1/04, C12R 1/22. Хромогенная питательная среда для выявления и идентификации клебсиелл: № 2008140829/10: заявл. 14.10.2008: опубл. 20.04.2011. Меджидов ММ, Степанова ЭД, Юнусова РЮ; заявитель Научно-производственное предприятие «Питательные среды».
14. Меджидов ММ, Степанова ЭД, Юнусова РЮ, Горелова ВГ, Омарова СМ. Оценка диагностической эффективности алгоритма выделения и ускоренной идентификации УПЗ с использованием отечественных хромогенных питательных сред. Клиническая лабораторная диагностика. 2012;5:51-54.
15. Приказ МЗ СССР № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». М.: Медицина, 1985.

References

1. Bondarenko VM, Fialkina SV, Agapova OV. Klebsiella and klebsiellaezy. Tver: Triada, 2008. (In Russian).
2. Nikolaeva IV, Semenova DR, Shaikhieva GS. Current insight into klebsiella infection in children. Russian Bulletin of Perinatology and Pediatrics. 2023;68(5):22-29. DOI: 10.21508/1027-4065-2023-68-5-22-29 (In Russian).
3. Chebotar IV, Bocharova YuA, Podoprighora IV, Shagin DA. The reasons why *Klebsiella pneumoniae* becomes a leading opportunistic pathogen. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2020;22(1):4-19. DOI: 10.36488/cmasc.2020.1.4-19 (In Russian).
4. Cubero M, Grau I, Tubau F, Pallarés R, Domínguez MÁ, Liñares J, et al. Molecular Epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* Strains Causing Bloodstream Infections in Adults. Microb Drug Resist. 2018 Sep;24(7):949-957. DOI: 10.1089/mdr.2017.0107
5. Kuz'menko SA, Brezhneva NI, Goncharov AE, Tutel'yan A.V. Features of nosocomial *Klebsiella pneumoniae* population. Fundamental and Clinical Medicine. 2019;4(2):58-65. DOI: 10.23946/2500-0764-2019-4-2-58-65 (In Russian).
6. Smirnova MV, Artemuk SD, Belkova EI, Melzer AA, Kozlova NS, Kugotova DA, et al. Antibiotic resistance of enterobacteria strains isolated from blood. Medicine: Theory and Practice. 2019;4(3):91-98. (In Russian).
7. Komisarova EV, Volozhantsev NV. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a new infectious threat. Infekc. bolezni (Infectious Diseases). 2019;17(3):81-89. DOI: 10.20953/1729-9225-2019-3-81-89 (In Russian).

8. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, *bla*_{NDM-1}, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*. 2009;53(12):5046-5054. DOI: 10.1128/aac.00774-09
9. De Oliveira DMP, Forde BM, Kidd TJ, Harris PNA, Schembri MA, Beatson SA, et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev*. 2020 May 13;33(3):e00181-19. DOI: 10.1128/CMR.00181-19
10. Bykov AO, Suvorova MP, Protsenko DN, Yakovlev SV, Ignatenko OV, Burmistrova EN, et al. Analysis of the structure of bacteremia and sensitivity to antibiotics of microorganisms isolated in intensive care units in an emergency hospital in the period from 2003 to 2021: a retrospective observational study. *Annals of Critical Care*. 2023;2:55-65. DOI: 10.21320/1818-474X-2023-2-55-65 (In Russian).
11. Sivolodsky EP. The chromogenic synthetic medium "Klebsiella 5-ASK CHROM-C" for isolation and identification of klebsiellae. *Klin Lab Diagn*. 2015 May;60(5):48-51. (In Russian).
12. MUK 4.2.2316-08 Methods of control. Biological and microbiological factors. Methods of control of bacteriological nutrient media. Methodical instructions. Introduction. 2008-01-18. M.: Federal Center for Hygiene and Surveillance of Rospotrebnadzor, 2008. (In Russian).
13. Medjidov MM, Stepanova ED, Yunusova RYu. Chromogennaya pitatel'naya sreda dlya vivyazheniya i identifikatsii klebsiell. Patent № 2416635 data registr. 20.04.2011. (In Russian).
14. Medjidov MM, Stepanova ED, Yunusova RYu, Gorelova VG, Omarova SM. The evaluation of diagnostic effectiveness of algorithm of isolation and express identification of opportunistic enterobacteria using national chromogenic growth mediums. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2012;(5):51-54. (In Russian).
15. Decree of the Ministry of Health of the USSR No 535 "On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of medical institutions." M.: Medicine, 1985. (In Russian).

Информация о соавторах:

Горелова Виктория Геннадьевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры патологической физиологии Дагестанского государственного медицинского университета

Воропаева Елена Александровна, доктор биологических наук, доцент, руководитель отдела медицинской биотехнологии, главный научный сотрудник лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора

Лиханская Елена Ивановна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией микробиологии и профилактики кишечных инфекций Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора

Скирда Татьяна Александровна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории коковых инфекций Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора

Бичучер Анна Мироновна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории коковых инфекций Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора

Мартыненко Ирина Геннадиевна, научный сотрудник лаборатории коковых инфекций Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора

Полилова Ирина Алексеевна, врач микробиологической лаборатории Инфекционной клинической больницы №2 Департамента здравоохранения г. Москвы

Мещерякова Анна Викторовна, врач микробиологической лаборатории Инфекционной клинической больницы №2 Департамента здравоохранения г. Москвы

Глухова Марина Ивановна, кандидат экономических наук, доцент кафедры менеджмента и маркетинга Московского психолого-социального университета

Комбарова Светлана Юрьевна, доктор биологических наук, директор Московского НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н.Габричевского Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Victoria G. Gorelova, PhD, MD, Associate Professor, Department of Pathological Physiology, Dagestan State Medical University

Elena A. Voropaeva, PhD, DSc (Biological Sciences), Associate Professor, Head of the Department of Medical Biotechnology, Chief Researcher, Laboratory of Clinical Microbiology and Biotechnology, G.N.Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor

Elena I. Likhanskaya, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Microbiology and Prevention of Intestinal Infections, G.N.Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor

Tatiana A. Skirda, PhD, MD, Leading Researcher at the Laboratory of Coccid Infections, G.N.Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor

Anna M. Bichucher, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Coccid Infections, G.N.Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor

Irina G. Martynenko, Researcher at the Laboratory of Coccid Infections, G.N.Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor

Irina A. Polilova, microbiological laboratory doctor, Infectious Clinical Hospital No 2 of the Moscow Department of Health

Anna V. Meshcheryakova, microbiological laboratory doctor, Infectious Clinical Hospital No 2 of the Moscow Department of Health

Marina I. Glukhova, PhD in Economic Sciences, Associate Professor, Department of Management and Marketing, Moscow Psychological and Social University

Svetlana Yu. Kombarova, PhD, DSc (Biological Sciences), Director of G.N.Gabrichesky Research Institute for Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor