

**СЕЛЕКТИВНАЯ СИНТЕТИЧЕСКАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА
«АЦИНЕТОБАКТЕР ФЕНИЛАЛАНИН АГАР» ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И
ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ КОМПЛЕКСА *ACINETOBACTER*
CALCOACETICUS – *ACINETOBACTER BAUMANNII***

Е.П. Сиволодский^{1,2},

Г.В. Горелова¹,

С.П. Богословская¹,

Е.В. Зуева²

¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ,
Санкт-Петербург, Россия

²ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-
Петербург, Россия

**A SELECTIVE SYNTHETIC GROWTH MEDIUM *ACINETOBACTER*
PHENYLALANINE AGAR IN ISOLATION AND IDENTIFICATION OF
THE *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* – *ACINETOBACTER*
BAUMANNII COMPLEX**

E.P. Sivolodskii^{a,b},

G.V. Gorelova^a,

S.P. Bogoslovskaya^a,

E.V. Zueva^b

^a Military Medical Academy named S.M. Kirov, St.Petersburg, Russian
Federation

^b St.Petersburg Pasteur Institute, St.Petersburg, Russian Federation

Acinetobacter phenylalanine agar.

Резюме. Цель исследования – клинико-микробиологическая апробация селективной питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* (комплекса АСВ). В клинико-бактериологической лаборатории Военно-медицинской академии были изучены в 2018 году 400 проб клинического материала (отделяемое ран, кровь, моча, бронхо-альвеолярный лаваж) параллельно традиционным методом (посев на кровяной агар, выделение и идентификация чистых культур биохимическими тестами и микробиологическим анализатором Vitek 2 ,bioMerieux) и посевом на чашки с питательной средой «Ацинетобактер фенилаланин агар». Селективность этой среды обусловлена трофической селекцией ацинетобактеров L- фенилаланином в качестве единственного источника азота и углерода и дополнительной селекцией триметопримом. Ацинетобактеры комплекса АСВ идентифицировали через 18-24 ч инкубации при 37°C по наличию характерных колоний на селективной среде. Контрольные тесты на цитохромоксидазу и ОФ-тест с глюкозой пероксидводородным микрообъемным методом (в течение 1 ч) позволяли экспрессно отличать ацинетобактеры комплекса АСВ от других бактерий и группы ацинетобактеров неокисляющих глюкозу. Далее определяли вид всех выделенных штаммов ацинетобактеров методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с время пролетной масс-спектрометрией (MALDI – TOF MS). Ацинетобактеры были выделены на селективной среде в 26 пробах (18 проб в монокультуре, 8 – в ассоциации с *Pseudomonas aeruginosa* или *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* при очень мелких колониях ассоциантов); традиционным методом – в 20 пробах (7 в монокультуре, 13 – в ассоциациях с синегнойной палочкой, клебсиеллами, эшерихиями, цитробактер, провиденциями, стафилококками, энтерококками, кандида альбиканс). Методом MALDI-TOF MS было установлено, что из 26 штаммов ацинетобактеров, выделенных на

Acinetobacter phenylalanine agar.

селективной среде, 25 относятся к комплексу АСВ (*A. baumannii* – 23, *A. pittii* – 2). Один штамм (*A. baylyi*) не относился к видам комплекса АСВ. Следовательно, диагностическая специфичность селективной синтетической питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» по выделению и идентификации бактерий комплекса *A. calcoaceticus* – *A. baumannii* составляет 96,2%, а ее диагностическая чувствительность превышает на 25% традиционный метод. Применение селективной среды ускоряет исследование – выделение и идентификация ацинетобактеров комплекса АСВ завершается через 18-24 ч после посева клинического материала. Селективность питательной среды потенциально стабильна, так как ее основной трофический фактор селекции не зависит от приобретенной антибиотикоустойчивости бактерий. Как синтетическая питательная среда она пригодна для стандартизованных исследований.

Ключевые слова: бактерии комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* – *Acinetobacter baumannii*, селективная синтетическая питательная среда, L– фенилаланин, триметоприм, стабильная селекция, стандартизация исследований.

Abstract. This study was aimed at conducting a clinical and microbiological testing of selective growth medium Acinetobacter phenylalanine agar for isolation and identification of the *Acinetobacter calcoaceticus* - *Acinetobacter baumannii* complex (ACB complex) species. For this, 400 samples of clinical material (wound discharge, blood, urine, bronchoalveolar lavage) were examined in 2018 at the Clinical and Bacteriological Laboratory, Military Medical Academy, by standard method (blood agar seeding, pure culture isolation as well as biochemical identification assays and microbiological analyzer Vitek 2, bioMerieux) and seeding in Petri dish covered by growth medium Acinetobacter phenylalanine agar. Selectivity of such culture medium is accounted for by Acinetobacter-specific trophic selection with L-phenylalanine being a sole source of nitrogen and carbon

Acinetobacter phenylalanine agar.

additionally supplemented with and trimethoprim component. ACB complex acinetobacters were identified 18-24 h after incubation at 37 ° C by emergence of typical colonies on selective medium. Control test for cytochrome oxidase and the oxidative/*fermentation* (OF)-glucose *assay* by peroxide-hydrogen microvolume method (for 1 h) allowed to instantly distinguish between ACB complex acinetobacters and other bacterial species as well as the group of non-oxidizing glucose acinetobacter spp. Next, species of all isolated acinetobacter strains were identified by matrix-activated laser desorption / ionization with time-of-flight mass spectrometry (MALDI - TOF MS). Acinetobacters were isolated on selective medium in 26 samples (18 samples in monoculture, 8 - in association with *Pseudomonas aeruginosa* or *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* with very small associate colonies); by standard method - in 20 samples (7 in monoculture, 13 - in association with *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Providencia*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Candida albicans*). MALDI-TOF MS method allowed to find that 25 / 26 acinetobacter strains isolated on a selective medium belonged to the ACB complex (*A. baumannii* - 23, *A. pittii* - 2). One strain (*A. baylyi*) did not belong to the ACB complex species. Hence, diagnostic specificity of the Acinetobacter phenylalanine agar synthetic medium for isolation and identification of *A. calcoaceticus* - *A. baumannii* complex bacteria was 96.2%, whereas its diagnostic sensitivity was superior to standard approach by 25%. Use of selective medium results in assay acceleration so that isolation and identification of the ACB complex acinetobacters was completed 18-24 h after seeding clinical material. Selectivity of the growth medium was potentially stable, as its main trophic selection factor does not depend on the acquired bacterial antibiotic resistance. Finally, such novel synthetic growth medium is suitable for performing standardized studies.

Key words: bacteria of the *Acinetobacter calcoaceticus* – *Acinetobacter baumannii* complex, selective synthetic nutrient medium, L – phenylalanine, trimethoprim, stable selection, standardization of studies.

1 Введение

2 Бактерии рода *Acinetobacter* неожиданно быстро вошли в группу
3 приоритетных возбудителей раневых и госпитальных инфекций. При этом
4 ведущее клиническое значение имеет вид *Acinetobacter baumannii*. Ввиду
5 фенотипического сходства *A. baumannii* и некоторых видов ацинетобактеров
6 допускается при лабораторной диагностике их идентификация как «бактерий
7 комплекса *A. calcoaceticus* – *A. baumannii*» (комплекса АСВ), включающего
8 виды *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* [5,7].
9 Предложено также включить в этот комплекс виды *A. dijkschoorniae* [4],
10 *A. seifertii* [8]. Для выделения и идентификации ацинетобактеров применяли
11 отечественную этанол-аммонийную среду ЭАС. Однако, она недостаточно
12 селективна и требует длительного исследования (более 48 ч). Использовали
13 также селективно-дифференциальную среду Лидс (Leeds *Acinetobacter*
14 Medium) [6]. Ее селективность обеспечивает комплекс трех антибиотиков
15 (ванкомицин, цефсулодин, цефрадин), однако, он допускает рост многих
16 видов неферментирующих бактерий и энтеробактерий. На хромогенной
17 среде CHROM agar *Acinetobacter* (CHROMagar, France), содержащей
18 селективные антибиотики, также возможен рост некоторых псевдомонад и
19 энтеробактерий. Общим недостатком указанных питательных сред,
20 селективность которых обусловлена антибиотиками, является неуклонное
21 снижение их селективности в связи с повсеместным возрастанием
22 антибиотикоустойчивости бактерий. Нами была разработана селективная
23 синтетическая питательная среда для выделения и идентификации
24 ацинетобактеров комплекса АСВ, основанная на принципе трофической
25 селекции [2].

26 *Цель исследования* – клинико-микробиологическая апробация
27 селективной синтетической питательной среды «Ацинетобактер

Acinetobacter phenylalanine agar.

28 фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса
29 *A. calcoaceticus* – *A. baumannii*.

30 Материалы и методы

31 *Клинический материал и схема его исследования.* Изучали 400 проб
32 клинического материала (отделяемое ран, кровь, мочу, бронхо-альвеолярный
33 лаваж), выделенного в клиниках Военно- медицинской академии в 2018
34 году. Материал исследовали в клинико-бактериологической лаборатории
35 параллельно традиционным методом (посев на кровяной агар, выделение
36 чистых культур бактерий, идентификация их биохимическими тестами и
37 микробиологическим анализатором Vitek 2, bioMerieux, France) и посевом на
38 чашки с селективной питательной средой «Ацинетобактер фенилаланин
39 агар». Ацинетобактеры комплекса АСВ идентифицировали через 18-24 ч
40 инкубации при 37°C по наличию характерных колоний на селективной
41 среде. Контрольными тестами на цитохромоксидазу и ОФ-тест с глюкозой
42 пероксидводородным микрообъемным методом (в течение 1 ч)
43 дифференцировали ацинетобактеры комплекса АСВ от других бактерий и
44 группы ацинетобактеров неокисляющих глюкозу. Далее определяли вид всех
45 выделенных штамов ацинетобактеров методом матрично-активированной
46 лазерной десорбции/ионизации с время пролетной масс-спектрометрией
47 (MALDI-TOF MS).

48 *Питательные среды.* Для приготовления кровяного агара и
49 культивирования чистых культур бактерий применяли «Колумбийский агар»
50 (НИЦФ, Санкт-Петербург). Для изготовления селективной питательной
51 среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» использовали L – Phenylalanine
52 (CAS no 63-91-2) производства Sigma-Aldrich, Швейцария и Ttimethoprim
53 (CAS no 738-70-5) производства Merck, США.

54 *Методика изготовления селективной питательной среды*
55 *«Ацинетобактер фенилаланин агар».* Питательная среда была разработана

Acinetobacter phenylalanine agar.

56 Сиволодским Е.П. [2]. Состав питательной среды: L – фенилаланин (CAS
57 по 63-91-2) 2,0 – 3,0 г; триметоприм (CAS по 798-70-5) 0,006 – 0,01г ;
58 диметилсульфоксид 6 – 10 мл; NaCl 5,0 г; Na₂SO₄ 2,0 г; КН₂РО₄ 1,0 г; К₂НРО₄
59 2,5 г; MgSO₄ 0,1г ; агар микробиологический 15,0 г; вода дистиллированная
60 1 л ; рН 7,2 ±0,2. Приготовление. В 1 л дистиллированной воды вносят все
61 ингредиенты, кроме триметоприма, растворяют при нагревании, кипятят 5
62 минут, добавляют триметоприм (6 мл 0,1% раствора в диметилсульфоксиде),
63 проверяют рН 7,2, разливают в стерильные чашки Петри. Среда прозрачная,
64 пригодная к использованию в течение 30 суток при хранении от 4°С до 8°С.
65 Контроль питательной среды: суточные бульонные культуры контрольных
66 штаммов (клинические штаммы *A. baumannii*, *Klebsiella oxytoca* и штамм
67 *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) засевают по одной петле радиальным
68 штрихом на поверхность испытуемой среды в чашке, инкубируют аэробно
69 при 37°С 24 ч; среда пригодна к использованию, если имеется пышный рост
70 бактерий *A. baumannii*; рост *P. aeruginosa* отсутствует или очень угнетен
71 (очень мелкие микроколонии), отсутствует рост *K. oxytoca*.

72 *Методика применения селективной питательной среды*
73 *«Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации*
74 *бактерий комплекса A. calcoaceticus – A. baumannii.* Исследуемый материал,
75 например, отделяемое ран засевают тампоном или бактериологической
76 петлей на поверхность сектора селективной среды (¼ часть чашки Петри);
77 для количественного изучения используют по 100 мкл соответствующего
78 разведения материала (мочи, бронхо-альвеолярного лаважа) и растирают
79 шпателем по всей поверхности среды в чашке. Посевы инкубируют аэробно
80 при 37°С в течение 18-24 ч. Затем определяют принадлежность бактерий к
81 ацинетобактерам комплекса АСВ по наличию характерных колоний
82 диаметром 1-2 мм, круглых, выпуклых, с ровными краями, светло-серого
83 цвета, непрозрачных. Контрольную проверку бактерий из колоний или
84 газона бактерий проводят тестом на цитохромоксидазу (в течение 20 секунд)

Acinetobacter phenylalanine agar.

85 и экспрессным (1 ч) определением окисления и ферментации глюкозы (ОФ-
86 тест) пероксидводородным микрообъемным методом [1]. Ацинетобактеры
87 комплекса АСВ оксидазоотрицательные; не ферментируют, но окисляют
88 глюкозу в течение 1 ч. Ацинетобактеры группы неокисляющих глюкозу не
89 окисляют и не ферментируют глюкозу в течение 1 ч, оксидазоотрицательные.
90 Иногда на селективной среде наблюдается очень подавленный рост колоний
91 *P. aeruginosa*: мелкоточечные колонии менее 0,1 мм, окруженные прозрачной
92 пленкой, оксидазоположительные. Очень редко наблюдается подавленный
93 рост клебсиелл; мелкие колонии 0,1 мм, выпуклые, светло-белые;
94 оксидазоотрицательные, ферментируют глюкозу в течение 1 ч.

95 *Методика теста на цитохромоксидазу бактерий.* Наносят на
96 фильтровальную бумагу в чашке несколько капель свежеприготовленного
97 1% водного раствора тетраметил-парафенилендиамина. Запаянным концом
98 пастеровской пипетки или платиновой петлей отбирают часть колонии или
99 газона исследуемых бактерий и наносят их на влажную бумагу с реактивом.
100 Появление синей окраски комочка бактерий в течение до 20 секунд
101 указывает на наличие цитохромоксидазы. Отсутствие окраски или появление
102 ее в более поздние сроки указывает на отрицательный результат.

103 *Методика пероксидводородного микрообъемного ОФ-теста для*
104 *экспрессного (1 ч) определения окисления и ферментации глюкозы*
105 *грамотрицательными бактериями.* Используют «Набор для определения
106 ферментации и окисления глюкозы (ОФ-теста) пероксидводородным
107 микрообъемным методом» (производства НИИЭМ имени Пастера, Санкт-
108 Петербург). Набор содержит среду № 1 (для ферментации глюкозы) – 100
109 мл 1% раствора D-глюкозы в фосфатно-буферной основе рН-7,6 с
110 индикатором фенол-рот. Пергидроль (30% раствор пероксида водорода) 5
111 мл. Среду № 2 (для окисления глюкозы) готовят из среды № 1 путем
112 внесения 10 мл среды № 1 в отдельный флакон, добавления 0,2 мл
113 пергидроля до конечной концентрации пероксида водорода 0,6% в среде № 2.

Acinetobacter phenylalanine agar.

114 Среда № 2 пригодна к использованию в течение 12 ч. В лунки полимерного
115 планшета вносят отдельно по 0,1 мл среды №1 (для ферментации глюкозы)
116 и среды № 2 (для окисления глюкозы). Исследуемую культуру вносят
117 полную петлю диаметром 2 мм (не платиновой) в лунку со средой № 1 и
118 перемешивают. Таким же образом засевают культуру в лунку со средой для
119 окисления глюкозы, в которой при перемешивании наблюдается бурное
120 выделение пузырьков газа (кислорода) вследствие действия каталазы
121 бактерий на пероксид водорода в среде. Посевы инкубируют аэробно при
122 37°С в течение 1 ч. Изменение исходного красного цвета среды № 1 в желтый
123 означает ферментацию глюкозы; переход окраски среды в желтый цвет и
124 газообразование в лунке со средой № 2 указывает на окисление глюкозы.
125 Отсутствие изменения окраски среды в обеих лунках при газообразовании в
126 среде № 2 указывает на отсутствие ферментации и окисления глюкозы.
127 Контроли – те же среды без посева бактерий.

128 *Методика идентификации вида ацинетобактеров методом MALDI-*
129 *TOF масс-спектрометрии.* Использовали настольный масс-спектрограф
130 Microflex с базой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Inc., Germany).
131 Подготовку к исследованию чистых культур бактерий и проведение
132 исследований осуществляли в соответствии с инструкцией к прибору.

133 Результаты

134 При сравнительном исследовании в клинико-бактериологической
135 лаборатории 400 проб клинического материала традиционным методом и
136 селективной питательной средой «Ацинетобактер фенилаланин агар» были
137 выделены бактерии комплекса АСВ на селективной питательной среде в 26
138 пробах (18 проб в монокультуре; 8 – в ассоциациях, из них 7 с *P. aeruginosa*,
139 1 с *K. pneumoniae subsp. pneumoniae*). Традиционным методом были
140 выделены бактерии комплекса АСВ в 20 пробах (7 проб в монокультуре,
141 13 – в ассоциациях с *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter*

Acinetobacter phenylalanine agar.

142 *freundii*, *Providencia rettgeri*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*,
143 *Candida albicans*). Методом MALDI-TOF MS было установлено, что из 26
144 штаммов ацинетобактеров, выделенных на селективной среде, 25 относятся к
145 видам комплекса АСВ (*A. baumannii* – 23, *A. pittii* – 2). Один штамм (*A.*
146 *baylyi*) не принадлежит к видам комплекса АСВ. Следовательно,
147 диагностическая специфичность селективной синтетической питательной
148 среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» по выделению и идентификации
149 бактерий комплекса *A. calcoaceticus* – *A. baumannii* составляет 96,2%, а ее
150 диагностическая чувствительность превышает на 25% традиционный метод.
151 Применение селективной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар»
152 ускоряет диагностическое исследование – выделение и идентификация
153 бактерий комплекса *A. calcoaceticus* – *A. baumannii* завершается через 18-24 ч
154 после посева клинического материала. Исследование традиционным
155 методом требует 48-72 ч.

156 Обсуждение

157 Основным селективным фактором питательной среды «Ацинетобактер
158 фенилаланин агар» является L – фенилаланин, который в качестве
159 единственного источника углерода и азота синтетической среды
160 непосредственно определяет положительную селекцию ацинетобактеров и
161 отрицательную селекцию прочих микроорганизмов. Дополнительный
162 селективный фактор триметоприм предназначен только для подавления роста
163 бактерий *Burkholderia cepacia*. Признак утилизации L – фенилаланина в
164 качестве единственного источника углерода широко представлен у бактерий
165 комплекса *A. calcoaceticus* – *A. baumannii*: *A. calcoaceticus* – 100% [5,7], *A.*
166 *baumannii* – 80% [5], 84% [7]; *A. pittii* – 75% [7]; *A. nosocomialis* – 93% [5],
167 85% [7]; *A. seifertii* – 100% [4], 86% [8]; *A. dijkschoorniae* – 100% штаммов
168 [4]. По нашим данным, полученным в 2018 году, частота утилизации
169 L – фенилаланина в качестве единственного источника углерода и азота

Acinetobacter phenylalanine agar.

170 у *A. baumannii* (n=118 штаммов) – 95,8±1,7%; *A. pittii* (n =9 штаммов) –
171 66,7%; *A. nosocomialis* (n=7 штаммов) – 100% штаммов [3].

172 Результаты испытания селективной среды в клиничко-бактериологической
173 лаборатории подтверждают высокую интенсивность утилизации L –
174 фенилаланина ацинетобактерами комплекса АСВ, что обеспечивает высокую
175 скорость их роста – формирование пышных колоний максимального размера
176 (1-2 мм) с характерными признаками через 18-24 ч инкубации при 37°C.
177 Дифференцирующие признаки колоний ацинетобактеров комплекса АСВ
178 настолько характерны и отличаются от колоний возможных ассоциантов,
179 что позволяют использовать их в качестве ключевого признака
180 идентификации. Контрольные тесты на цитохромоксидазу, ОФ-тест с
181 глюкозой позволяют экспрессно (1 ч) отличить ацинетобактеры комплекса
182 АСВ от синегнойной палочки, клебсиелл и группы ацинетобактеров
183 неокисляющих глюкозу.

184 При апробации селективной среды был выявлен широкий спектр ее
185 ингибиторного действия на микроорганизмы проб клинического материала.
186 В 18 из 26 проб были выделены монокультуры ацинетобактеров комплекса
187 АСВ. В 8 пробах имелся резко подавленный рост ассоциантов в виде
188 мелкоточечных колоний синегнойной палочки или клебсиелл. Отсутствовал
189 рост энтеробактерий, стафилококков, энтерококков, кандиды альбиканс,
190 которые росли на кровяном агаре. Следует отметить, что известная
191 селективно-дифференциальная среда Лидс менее ингибиторная. По данным
192 ее авторов [6], она допускает рост *Serratia marcescens*, *Providencia rettgeri*,
193 *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*. На хромогенной
194 питательной среде «CHROM agar *Acinetobacter*» (производства CHROMagar,
195 France) возможен рост некоторых штаммов синегнойной палочки и
196 серраций. На указанных средах также возможен рост других бактерий,
197 получивших устойчивость к селективным антибиотикам питательной среды.
198 Диагностическая специфичность селективной среды «Ацинетобактер

Acinetobacter phenylalanine agar.

200 фенилаланин агар» – 96,2%, так как один из выделенных штаммов (*A. baylyi*)
201 не относится к видам комплекса АСВ. Ее диагностическая чувствительность
202 превышает на 25% традиционный метод. Вероятно, этот результат
203 обусловлен выявлением бактерий комплекса АСВ при низких
204 концентрациях их в пробах, ввиду высокой аналитической чувствительности
205 селективной среды. Ранее нами было установлено, что аналитическая
206 чувствительность этой питательной среды для бактерий *A. baumannii*, *A. pittii*,
A. nosocomialis составляет 1-2 КОЕ мл⁻¹ [2].

207 Заключение

208 Апробация в клинико-бактериологической лаборатории селективной
209 синтетической питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар»
210 установила, что эта среда обеспечивает выделение и идентификацию
211 ацинетобактерий комплекса *A. calcoaceticus* – *A. baumannii* через 18-24 ч
212 инкубации при 37°C по наличию роста характерных колоний. Иногда
213 отмечается слабый рост ассоциантов *P. aeruginosa* или *K. pneumoniae subsp.*
214 *pneumoniae*. Контрольные тесты на экспрессное определение
215 цитохромоксидазы и ОФ-теста с глюкозой (пероксидводородным
216 микрообъемным методом в течение 1 ч) обеспечивают дифференциацию
217 ацинетобактеров комплекса АСВ от синегнойной палочки, клебсиелл и
218 группы неокисляющих глюкозу ацинетобактеров. Диагностическая
219 чувствительность среды по выделению и идентификации ацинетобактеров
220 комплекса АСВ превышает традиционный метод на 25%, диагностическая
221 специфичность составляет 96,2%. Селективность питательной среды
222 потенциально стабильна, так как ее основной трофический фактор селекции
223 не зависит от приобретенной антибиотикоустойчивости бактерий. Эта
224 синтетическая среда не требует стерилизации паровым стерилизатором и
225 пригодна для стандартизации исследований. На питательную среду получен

Ацинетобактер фенилаланин агар

10.15789/2220-7619-ASS-1177

Acinetobacter phenylalanine agar.

226 патент РФ на изобретение № 2660567 от 2018 года [2]. Питательная среда
227 производится НИИЭМ имени Пастера, Санкт-Петербург.

МЕТАДАННЫЕ

Зуева Елена Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира 14

Телефон : 8-921-382-50-07 e-mail: elenazueva9@gmail.com

For correspondence: Zueva Elena Victorovna, PhD in Biological sciences, senior researcher laboratory of molecular immunology, St.Petersburg Pasteur Institute, St.Petersburg, Russian Federation

197101, Russian Federation, St.Petersburg , Mira str. 14

Phone: +7-921-382-50-07 e-mail: elenazueva9@gmail.com

Сиволодский Е.П., д.м.н., профессор, профессор кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия; старший научный сотрудник лаборатории молекулярно-биологических технологий ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

Горелова Г.В., врач – бактериолог микробиологической лаборатории Центральной клинко-диагностической лаборатории ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия

Богословская С.П., врач-бактериолог микробиологической лаборатории Центральной клинко-диагностической лаборатории ФГБОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ. Санкт-Петербург,Россия.

**СЕЛЕКТИВНАЯ СИНТЕТИЧЕСКАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА
«АЦИНЕТОБАКТЕР ФЕНИЛАЛАНИН АГАР» ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ**

Ацинетобактер фенилаланин агар

10.15789/2220-7619-ASS-1177

Acinetobacter phenylalanine agar.

**И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ КОМПЛЕКСА
ACINETOBACTER CALCOACETICUS – *ACINETOBACTER
BAUMANNII***

Текст 10 страниц, раздел « Методы»

Дата отправления:

ТИТУЛЬНЫЙ ЛИСТ

**СЕЛЕКТИВНАЯ СИНТЕТИЧЕСКАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА
«АЦИНЕТОБАКТЕР ФЕНИЛАЛАНИН АГАР» ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ
И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ КОМПЛЕКСА
*ACINETOBACTER CALCOACETICUS – ACINETOBACTER
BAUMANNII***

**THE SELECTIVE SYNTHETIC NUTRIENT MEDIUM
«ACINETOBACTER PHENYLALANINE AGAR» FOR THE
ISOLATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA OF THE
*ACINETOBACTER CALCOACETICUS – ACINETOBACTER
BAUMANNII* COMPLEX**

Сиволодский Евгений Петрович^{1,2}, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии ¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург; старший научный сотрудник ²ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Горелова Галина Васильевна¹, врач-бактериолог микробиологической лаборатории Центральной клинико-диагностической лаборатории ¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Богословская Светлана Петровна¹, врач-бактериолог микробиологической лаборатории Центральной клинико-диагностической лаборатории ¹ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова» МО РФ, Санкт-Петербург, Россия.

Зуева Елена Викторовна², кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ²ФБУН НИИ

Acinetobacter phenylalanine agar.

эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Sivolodskii Evgeny Petrovich^{a,b}, Grand PhD in Medical sciences, professor, department of microbiology^aMilitary Medical Academy named S.M. Kirov, St.Petersburg, senior researcher^bSt.Petersburg Pasteur Institute, St.Petersburg, Russian Federation.

Gorelova Galina Vasilevna^a, bacteriologist in microbiological laboratory of the Central clinical diagnostic laboratory^aMilitary Medical Academy named S.M. Kirov, St.Petersburg, Russian Federation.

Bogoslovskaya Svetlana Petrovna^a, bacteriologist in microbiological laboratory of the Central clinical diagnostic laboratory^aMilitary Medical Academy named S.M. Kirov, St.Petersburg, Russian Federation.

Zueva Elena Victorovna^b, PhD in Biological sciences, senior researcher laboratory of molecular immunology,^b St.Petersburg Pasteur Institute, St.Petersburg, Russian Federation.

Сокращенные слова для верхнего колонтитула: Ацинетобактер фенилаланин агар / Acinetobacter phenylalanine agar.

Ключевые слова: бактерии комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* – *Acinetobacter baumannii*, селективная синтетическая питательная среда, L – фенилаланин, триметоприм, стабильная селекция, стандартизация исследований.

Key words: bacteria of the *Acinetobacter calcoaceticus* – *Acinetobacter baumannii* complex, selective synthetic nutrient medium, L – phenylalanine, trimethoprim, stable selection, standardization of studies.

Адрес для переписки: Зуева Елена Викторовна,

Ацинетобактер фенилаланин агар

10.15789/2220-7619-ASS-1177

Acinetobacter phenylalanine agar.

197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира 14, ФБУН НИИ
эпидемиологии и микробиологии имени Пастера

Телефон: 8-921-382-50-07

e-mail: elenazueva9@gmail.com

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

| Порядковый номер ссылки | Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные | ФИО, название публикации и источника на английском языке | Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи |
|-------------------------|---|---|---|
| 1. | Сиволодский Е.П. Пероксидводородный микрообъемный метод ОФ-теста: экспрессное определение окисления и ферментации глюкозы грамотрицательными бактериями // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1991. № 1. С. 14-17. | [Sivolodskii E.P. Hydrogen peroxide microvolume method of the of test the rapid determination of the oxidation and fermentation of glucose by gram-negative bacteria., <i>Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology</i> 1991, no.1, pp.14-17. (In Russ.)]. | https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1950255 |

| | | | |
|----|--|---|---|
| 2. | Сиволодский Е.П. Способ выделения и идентификации бактерий комплекса Acinetobacter calcoaceticus – Acinetobacter baumannii. Патент РФ. № 2660567; 2018 | [Sivolodskii E.P. The method of isolation and identification of bacteria in complex Acinetobacter calcoaceticus – Acinetobacter baumannii. Patent RF, no.2660567, 2018 (In Russ.)]. | wwwl.fips.ru/fips_servl/fips_servletne w.fips.ru/registers-web/ |
| 3. | Сиволодский Е.П., Зуева Е.В. Таксономическое и прикладное значение профилей утилизации белковых аминокислот бактерий Acinetobacter baumannii, Acinetobacter pittii, Acinetobacter nosocomialis // Вестник Российской военно-медицинской академии. 2018. № 4(64). С. 113-116. | [Sivolodskii E.P., Zueva E.B. Taxonomic and applied value of profiles utilization of protein amino acids of bacteria Acinetobacter baumannii, Acinetobacter pittii, Acinetobacter nosocomialis. <i>Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii</i> = <i>Vestnik Rossiyskoi voenno-medicinskoi akademii</i> , 2018, no.4(64). Pp.113-116. (In | https://elibrary.ru/download/elibrary_36462893_9302610/.pdf |

| | | | |
|----|--|--|---|
| | | Russ.)]. | |
| 4. | | Cosgaya C., Mari-Almirall M., Van Assche A., Fernandez-Orth D., Mosqueda N., Telli M., Huys G., Higgins P., Seifert H., Lievens B., Roca I., Vila J. <i>Acinetobacter dijkshoorniae</i> sp. nov., a member of the <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> – <i>Acinetobacter baumannii</i> complex mainly recovered from clinical samples in different countries. <i>Int.J. Syst, Evol. Microbiol.</i> , 2016, vol.66, pp. 4105-4111. | [https://doi.10.1099/ijsem.0.001318] |
| 5. | | Gerner-Smidt P., Tjernberg I., Ursing J. Reliability of phenotypic tests for identification of <i>Acinetobacter</i> species. <i>J. Clin.</i> | https://jcm.asm.org/content/jcm/29/2/277.full.pdf |

| | | | |
|----|--|--|---|
| | | Microbiol., 1991, vol. 29, no.2, pp. 277-282. | |
| 6. | | Jawad A., Hawkey P.M., Heritage J., Shnelling A.M. Description of Leeds Acinetobacter medium, a new selective and differential medium for clinically important Acinetobacter spp. and comparison with Herella agar and Holton's agar. J. Clin. Microbiol., 1994, vol. 32, no. 10, pp. 2353-2358. | https://jcm.asm.org/content/32/10/2353.fbl.pdf |
| 7. | | Nemec A., Krizova L., Maixnerova M., Van der Reijden T.J., Deschaght P., Passet V., Venechoutte M., Brisse S., Dijkshoorn L. Genotypic and phenotypic characterization of the Acinetobacter calcoaceticus – | [https://doi.org/10.1016/j.resmic.2011.02.006] |

| | | | |
|----|--|---|---|
| | | Acinetobacter baumannii complex with the proposal of Acinetobacter pittii sp. nov. (formerly Acinetobacter genomic species 3) and Acinetobacter nosocomialis sp. nov. (formerly Acinetobacter genomic species 13 TU). Resarch in microbiology, 2011, vol. 162, pp. 393-404. | |
| 8. | | Nemec A., Krizova L., Maixnerova M., Sedo O., Brisse S., Higgins P.G. Acinetobacter seifertii sp. nov., a member of the Acinetobacter calcoaceticus – Acinetobacter baumannii complex isolated from | [https://doi.10.1099/ijs.0.000043] |

Ацинетобактер фенилаланин агар

10.15789/2220-7619-ASS-1177

Acinetobacter phenylalanine agar.

| | | | |
|--|--|---|--|
| | | human clinical specimens. <i>Int. J. Syst. Evol. Microbiol.</i> , 2015, vol. 65, pp. 934-942. | |
|--|--|---|--|