

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

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

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

Резюме. Цель исследования — клиничко-микробиологическая апробация селективной питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* (комплекса АСВ). В 2018 г. клиничко-бактериологической лаборатории Военно-медицинской академии были изучены 400 проб клинического материала (отделяемое ран, кровь, моча, бронхо-альвеолярные смывы) 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 в экспресс-режиме 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 ассоциации с синегнойной палочкой, клебсиеллами, эшерихиями, цитробактером, провиденциями, стафилококками, энтерококками, *C. albicans*). Методом MALDI-TOF MS было установлено, что из 26 штаммов ацинетобактеров, выделенных на 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

Адрес для переписки:

Зуева Елена Викторовна
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.
Тел.: 8 921 382-50-07 (моб.).
E-mail: elenazueva9@gmail.com

Contacts:

Elena V. Zueva
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,
St. Petersburg Pasteur Institute.
Phone: +7 921 382-50-07 (mobile).
E-mail: elenazueva9@gmail.com

Библиографическое описание:

Сиволодский Е.П., Горелова Г.В., Богословская С.П., Зуева Е.В. Селективная синтетическая питательная среда «Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* // Инфекция и иммунитет. 2020. Т. 10, № 3. С. 591–596. doi: 10.15789/2220-7619-ASS-1177

Citation:

Sivolodskii E.P., Gorelova G.V., Bogoslovskaya S.P., Zueva E.V. Selective synthetic growth medium "Acinetobacter phenylalanine agar" for isolation and identification of *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex species // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 591–596. doi: 10.15789/2220-7619-ASS-1177

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.

SELECTIVE SYNTHETIC GROWTH MEDIUM «ACINETOBACTER PHENYLALANINE AGAR» FOR ISOLATION AND IDENTIFICATION OF ACINETOBACTER CALCOACETICUS — ACINETOBACTER BAUMANNII COMPLEX SPECIES

Sivolodskii E.P.^{a,b}, Gorelova G.V.^a, Bogoslovskaya S.P.^a, Zueva E.V.^b

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

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

Abstract. The aim of the study was to carry out clinical and microbiological testing of selective growth medium *Acinetobacter phenylalanine agar* to isolate and identify bacterial species belonging to the *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex (ACB complex). For this, 400 samples of clinical material (wound discharge, blood, urine, bronchoalveolar lavage) were examined in 2018 in the Clinical and Bacteriological Laboratory of the Military Medical Academy by using routine assays (seeding on blood agar growth medium, pure culture isolation and identification by using biochemical assays as well as VITEK 2 microbial identification system, bioMerieux) and plating together with growth medium *Acinetobacter phenylalanine agar* selective to *Acinetobacter* spp. owing to L-phenylalanine as a sole nitrogen and carbon source additional selected with trimethoprim. ACB complex *Acinetobacter* were identified 18–24 hours later after incubation at 37°C by emergence of typical colonies on selective medium. Control tests for cytochrome oxidase as well as oxidative/fermentation (OF)-glucose test by using peroxide-hydrogen microvolume method (for 1 h) allowed to rapidly distinguish ACB complex *Acinetobacter* from other bacteria as well as from *Acinetobacter* spp. unable to glucose oxidation. Next, species identity for all isolated *Acinetobacter* strains was established by using matrix-activated laser desorption/ionization with time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). It was found that by using novel vs. routine assay *Acinetobacter* spp. were isolated in 26 (18 samples — in monoculture, 8 — in association with *Pseudomonas aeruginosa* or *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae* with tiny associate colonies) vs. 20 (7 — in monoculture, 13 — in association with *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Citrobacter*, *Providencia*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *C. albicans*). Using MALDI-TOF MS method revealed that 25 out of 26 *Acinetobacter* strains isolated on selective growth medium belonged to the ACB complex (*A. baumannii* — 23, *A. pittii* — 2), whereas one strain (*A. baylyi*) did not belong to ACB complex. Hence, the diagnostic specificity of the *Acinetobacter phenylalanine agar* synthetic growth medium for isolation and identification of the *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* complex species comprised 96.2%, with diagnostic sensitivity exceeding that one for routine assay by 25%. Use of selective growth medium accelerates research by allowing to isolate and identify ACB complex *Acinetobacter* spp. 18–24 h later after plating clinical material. Selectivity of growth medium was potentially stable, as its major trophic selection factor did not depend on acquired bacterial antibiotic resistance, which is also suitable as a synthetic growth medium for standardized studies.

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

Введение

Бактерии рода *Acinetobacter* неожиданно быстро вошли в группу приоритетных возбудителей раневых и госпитальных инфекций. При этом ведущее клиническое значение имеет вид *Acinetobacter baumannii*. Ввиду фенотипического сходства *A. baumannii* и некоторых видов ацинетобактеров при лабораторной диагностике допускается их идентификация как «бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii*» (комплекса АСВ), включающего виды *A. calcoaceticus*, *A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* [5, 8]. Предложено также включить в этот комплекс виды *A. dijkshoorniae* [4], *A. seifertii* [7].

Для выделения и идентификации ацинетобактеров применяли отечественную этанол-аммонийную среду ЭАС. Однако она недостаточно селективна и требует длительного исследования (более 48 ч). Использовали также селективно-дифференциальную среду Лидс (Leeds *Acinetobacter* Medium) [6]. Ее селективность обеспечивает комплекс трех антибиотиков (ванкомицин, цефсулодин, цефрадин), однако он допускает рост многих видов неферментирующих бактерий и энтеробактерий. На хромогенной среде CHROM agar *Acinetobacter* (CHROMagar, Франция), содержащей селективные антибиотики, также возможен рост некоторых псевдомонад и энтеробактерий. Общим недостатком

указанных питательных сред, селективность которых обусловлена антибиотиками, является неуклонное снижение их селективности в связи с повсеместным возрастанием антибиотикостойчивости бактерий. Нами была разработана селективная синтетическая питательная среда для выделения и идентификации ацинетобактеров комплекса АСВ, основанная на принципе трофической селекции [1].

Цель исследования — клинико-микробиологическая апробация селективной синтетической питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii*.

Материалы и методы

Клинический материал и схема его исследования. Изучали 400 проб клинического материала (отделяемое ран, кровь, мочу, бронхоальвеолярные смывы), выделенного в клиниках Военно-медицинской академии в 2018 г. Материал исследовали в клинико-бактериологической лаборатории параллельно традиционным методом (посев на кровяной агар, выделение чистых культур бактерий, идентификация их биохимическими тестами и микробиологическим анализатором «Vitek 2» (bioMérieux, Франция) и посевом на чашки с селективной питательной средой «Ацинетобактер фенилаланин агар». Ацинетобактеры комплекса АСВ идентифицировали через 18–24 ч инкубации при 37°C по наличию характерных колоний на селективной среде. Контрольными тестами на цитохромоксидазу и ОФ-тест с глюкозой пероксидводородным микробъемным методом (в течение 1 ч) дифференцировали 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 времяпролетной масс-спектрометрией (MALDI-TOF MS).

Питательные среды. Для приготовления кровяного агара и культивирования чистых культур бактерий применяли «Колумбийский агар» (НИЦФ, Санкт-Петербург). Для изготовления селективной питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» использовали L-Phenylalanine (CAS по 63-91-2) производства Sigma-Aldrich (Швейцария) и Trimethoprim (CAS по 738-70-5) производства Merck (США).

Методика изготовления селективной питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар». Питательная среда была разработана Сиволодским Е.П. [1]. Состав питательной среды: L-фенилаланин (CAS по 63-91-2) 2,0–3,0 г;

триметоприм (CAS по 798-70-5) 0,006–0,01 г; диметилсульфоксид 6–10 мл; NaCl 5,0 г; Na₂SO₄ 2,0 г; KН₂PO₄ 1,0 г; K₂HPO₄ 2,5 г; MgSO₄ 0,1 г; агар микробиологический 15,0 г; вода дистиллированная 1 л; pH 7,2±0,2. Приготовление: в 1 л дистиллированной воды вносят все ингредиенты, кроме триметоприма, растворяют при нагревании, кипятят 5 мин, добавляют триметоприм (6 мл 0,1% раствора в диметилсульфоксиде), проверяют pH 7,2, разливают в стерильные чашки Петри. Среда прозрачная, пригодная к использованию в течение 30 сут при хранении от 4 до 8°C. Контроль питательной среды: суточные бульонные культуры контрольных штаммов (клинические штаммы *A. baumannii*, *Klebsiella oxytoca* и штамм *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853) засевают по одной петле радиальным штрихом на поверхность испытуемой среды в чашке, инкубируют аэробно при 37°C 24 ч; среда пригодна к использованию, если имеется пышный рост бактерий *A. baumannii*; рост *P. aeruginosa* отсутствует или очень угнетен (очень мелкие микроколонии), отсутствует рост *K. oxytoca*.

*Методика применения селективной питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» для выделения и идентификации бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii*.* Исследуемый материал, например, отделяемое ран засевают тампоном или бактериологической петлей на поверхность сектора селективной среды (¼ часть чашки Петри); для количественного изучения используют по 100 мкл соответствующего разведения материала (мочи, бронхоальвеолярного смыва) и растирают шпателем по всей поверхности среды в чашке. Посевы инкубируют аэробно при 37°C в течение 18–24 ч. Затем определяют принадлежность бактерий к ацинетобактерам комплекса АСВ по наличию характерных колоний диаметром 1–2 мм, круглых, выпуклых, с ровными краями, светло-серого цвета, непрозрачных. Контрольную проверку бактерий из колоний или газона бактерий проводят тестом на цитохромоксидазу (в течение 20 с) и экспрессным (1 ч) определением окисления и ферментации глюкозы (ОФ-тест) пероксидводородным микробъемным методом [2]. Ацинетобактеры комплекса АСВ оксидазоотрицательные; не ферментируют, но окисляют глюкозу в течение 1 ч. Ацинетобактеры группы неокисляющих глюкозу не окисляют и не ферментируют глюкозу в течение 1 ч, оксидазоотрицательные. Иногда на селективной среде наблюдается очень подавленный рост колоний *P. aeruginosa*: мелко-точечные колонии менее 0,1 мм, окруженные прозрачной пленкой, оксидазоположительные. Очень редко наблюдается подавленный рост клебсиелл; мелкие колонии 0,1 мм, выпуклые,

светло-белые; оксидазоотрицательные, ферментируют глюкозу в течение 1 ч.

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

Методика пероксидводородного микрообъемного ОФ-теста для экспресс-определения (1 ч) окисления и ферментации глюкозы грамотрицательными бактериями. Используют «Набор для определения ферментации и окисления глюкозы (ОФ-теста) пероксидводородным микрообъемным методом» (производства НИИЭМ имени Пастера, Санкт-Петербург). Набор содержит среду № 1 (для ферментации глюкозы) — 100 мл 1% раствора D-глюкозы в фосфатно-буферной основе pH 7,6 с индикатором фенол-рот. Пергидроль (30% раствор пероксида водорода) 5 мл. Среду № 2 (для окисления глюкозы) готовят из среды № 1 путем внесения 10 мл среды № 1 в отдельный флакон, добавления 0,2 мл пергидроля до конечной концентрации пероксида водорода 0,6% в среде № 2. Среда № 2 пригодна к использованию в течение 12 ч. В лунки полимерного планшета вносят раздельно по 0,1 мл среды № 1 (для ферментации глюкозы) и среды № 2 (для окисления глюкозы). Исследуемую культуру вносят полную петлю диаметром 2 мм (не платиновой) в лунку со средой № 1 и перемешивают. Таким же образом засевают культуру в лунку со средой для окисления глюкозы, в которой при перемешивании наблюдается бурное выделение пузырьков газа (кислорода) вследствие действия каталазы бактерий на пероксид водорода в среде. Посевы инкубируют аэробно при 37°C в течение 1 ч. Изменение исходного красного цвета среды № 1 в желтый означает ферментацию глюкозы; переход окраски среды в желтый цвет и газообразование в лунке со средой № 2 указывает на окисление глюкозы. Отсутствие изменения окраски среды в обеих лунках при газообразовании в среде № 2 указывает на отсутствие ферментации и окисления глюкозы. Контроли — те же среды без посева бактерий.

Методика идентификации вида ацинетобактеров методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Использовали настольный масс-спектрограф «Microflex» с базой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Inc., Германия).

Подготовку к исследованию чистых культур бактерий и проведение исследований осуществляли в соответствии с инструкцией к прибору.

Результаты

При сравнительном исследовании в клинико-бактериологической лаборатории 400 проб клинического материала традиционным методом и селективной питательной средой «Ацинетобактер фенилаланин агар» были выделены бактерии комплекса АСВ на селективной питательной среде в 26 пробах (18 проб в монокультуре; 8 — в ассоциациях, из них 7 с *P. aeruginosa*, 1 с *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*). Традиционным методом были выделены бактерии комплекса АСВ в 20 пробах (7 проб в монокультуре, 13 — в ассоциациях с *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Providencia rettgeri*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Candida albicans*). Методом MALDI-TOF MS было установлено, что из 26 штаммов ацинетобактеров, выделенных на селективной среде, 25 относятся к видам комплекса АСВ (*A. baumannii* — 23, *A. pittii* — 2). Один штамм (*A. baylyi*) не принадлежит 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 «Ацинетобактер фенилаланин агар» ускоряет диагностическое исследование: выделение и идентификация бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* завершается через 18–24 ч после посева клинического материала. Исследование традиционным методом требует 48–72 ч.

Обсуждение

Основным селективным фактором питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» является L-фенилаланин, который в качестве единственного источника углерода и азота синтетической среды непосредственно определяет положительную селекцию ацинетобактеров и отрицательную селекцию прочих микроорганизмов. Дополнительный селективный фактор триметоприм предназначен только для подавления роста бактерий *Burkholderia cepacia*. Признак утилизации L-фенилаланина в качестве единственного источника углерода широко представлен у бактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii*: *A. calcoaceticus* — 100% [5, 8], *A. baumannii* — 80% [5], 84% [8]; *A. pittii* — 75% [8]; *A. nosocomialis* — 93% [5], 85% [8]; *A. seifertii* — 100% [4],

86% [7]; *A. dijkschoorniae* — 100% штаммов [4]. По нашим данным, полученным в 2018 г., частота утилизации L-фенилаланина в качестве единственного источника углерода и азота у *A. baumannii* (n = 118 штаммов) — $95,8 \pm 1,7\%$; *A. pittii* (n = 9 штаммов) — $66,7\%$; *A. nosocomialis* (n = 7 штаммов) — 100% штаммов [3].

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

При апробации селективной среды был выявлен широкий спектр ее ингибиторного действия на микроорганизмы проб клинического материала. В 18 из 26 проб были выделены монокультуры ацинетобактеров комплекса АСВ. В 8 пробах имелся резко подавленный рост ассоциантов в виде мелкоочечных колоний синегнойной палочки или клебсиелл. Отсутствовал рост энтеробактерий, стафилококков, энтерококков, *C. albicans*, которые росли на кровяном агаре. Следует отметить, что известная селективно-дифференциальная среда Лидс менее ингибиторная. По данным ее авторов [6], она допускает рост *Serratia marcescens*, *Providencia rettgeri*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*. На хромогенной питательной среде «CHROM agar Acinetobacter» (CHROMagar, Франция) возможен рост некоторых штаммов синегнойной палочки и серраций. На указанных средах также возможен рост других бактерий, получивших устойчивость к селективным антибиотикам питательной среды. Диагностическая специ-

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

Заключение

Апробация в клинико-бактериологической лаборатории селективной синтетической питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» установила, что эта среда обеспечивает выделение и идентификацию ацинетобактерий комплекса *A. calcoaceticus* — *A. baumannii* через 18–24 ч инкубации при 37°C по наличию роста характерных колоний. Иногда отмечается слабый рост ассоциантов *P. aeruginosa* или *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*. Контрольные тесты на экспрессное определение цитохромоксидазы и ОФ-теста с глюкозой (пероксид-водородным микробоъемным методом в течение 1 ч) обеспечивают дифференциацию ацинетобактеров комплекса АСВ от синегнойной палочки, клебсиелл и группы неокисляющих глюкозу ацинетобактеров. Диагностическая чувствительность среды по выделению и идентификации ацинетобактеров комплекса АСВ превышает традиционный метод на 25%, диагностическая специфичность составляет 96,2%. Селективность питательной среды потенциально стабильна, так как ее основной трофический фактор селекции не зависит от приобретенной антибиотикоустойчивости бактерий. Эта синтетическая среда не требует стерилизации паровым стерилизатором и пригодна для стандартизации исследований. На питательную среду получен патент РФ на изобретение № 2660567 от 2018 г. [1]. Питательная среда производится НИИЭМ имени Пастера, Санкт-Петербург.

Список литературы/References

1. Патент № 2660567 Российская Федерация, МПК C12Q 1/04 (2006.01); C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/02 (2006.01). Способ выделения и идентификации бактерий комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii*: № 2017130632; заявлено 29.08.2017; опубликовано 06.07.2018 / Сиволодский Е.П. Патентообладатель: Сиволодский Е.П. 8 с. [Patent No. 2660567 Russian Federation, Int. Cl. C12Q 1/04 (2006.01); C12N 1/20 (2006.01); C12R 1/02 (2006.01). Method for isolation and identification of bacteria of *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex. No. 2017130632; application: 2017.08.29; date of publication 2018.07.06 / Sivolodskii E.P. Proprietors: Sivolodskii E.P. 8 p.]
2. Сиволодский Е.П. Пероксидводородный микробоъемный метод ОФ-теста: экспрессное определение окисления и ферментации глюкозы грамотрицательными бактериями // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 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. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunologii* = *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1991, no. 1, pp. 14–17. (In Russ.)]

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.V. Taxonomic and applied value of profiles utilization of protein amino acids of bacteria *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter pittii*, *Acinetobacter nosocomialis*. *Vestnik Rossiyskoy voenno-meditsinskoy akademii* = *Bulletin of the Russian Military Medical Academy*, 2018, no. 4 (64), pp. 113–116. (In 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. *Acinetobacter dijkshoorniae* sp. nov., a member of the *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* complex mainly recovered from clinical samples in different countries. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2016, vol. 66, pp. 4105–4111. doi: 10.1099/ijsem.0.001318
5. Gerner-Smidt P., Tjernberg I., Ursing J. Reliability of phenotypic tests for identification of *Acinetobacter* species. *J. Clin. Microbiol.*, 1991, vol. 29, no. 2, pp. 277–282.
6. Jawad A., Hawkey P.M., Heritage J., Shnellling 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.
7. Nemes 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 human clinical specimens. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2015, vol. 65, pp. 934–942. doi: 10.1099/ijse.0.000043
8. Nemes 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* — *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). *Res. Microbiol.*, 2011, vol. 162, pp. 393–404.

Авторы:

Сиволодский Е.П., д.м.н., профессор кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург; старший научный сотрудник ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия;

Горелова Г.В., врач-бактериолог микробиологической лаборатории Центральной клинко-диагностической лаборатории ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Богословская С.П., врач-бактериолог микробиологической лаборатории Центральной клинко-диагностической лаборатории ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия;

Зуева Е.В., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной иммунологии ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия.

Authors:

Sivolodskii E.P., PhD, MD (Medicine), Professor of the Department of Microbiology, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg; Senior Researcher, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

Gorelova G.V., Bacteriologist, Microbiological Laboratory, Central Clinical Diagnostic Laboratory, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation;

Bogoslovskaya S.P., Bacteriologist, Microbiological Laboratory, Central Clinical Diagnostic Laboratory, S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg, Russian Federation;

Zueva E.V., PhD (Medicine), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Immunology, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation.

Поступила в редакцию 09.04.2019
Отправлена на доработку 03.06.2019
Принята к печати 05.06.2019

Received 09.04.2019
Revision received 03.06.2019
Accepted 05.06.2019