

# МЕТОД СЕЛЕКТИВНОГО ВЫДЕЛЕНИЯ ACINETOBACTER BAYLYI ИЗ РЕЧНОЙ ВОДЫ



Е.П. Сиволодский<sup>1,2</sup>, Л.А. Краева<sup>1,2</sup>, Е.В. Мельникова<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия

**Резюме.** Цель исследования — повышение селективности выделения бактерий *Acinetobacter baylyi* из речной воды. При разработке селективной среды использовали 5 штаммов *A. baylyi*, из них 4 были выделены из воды реки Невы, 1 — из клинического материала. Штаммы *A. baylyi* идентифицировали по комплексу фенотипических признаков и/или с помощью масс-спектрометрического метода (MALDI-ToF MS). В предварительных исследованиях было установлено, что бактерии *A. baylyi* не утилизируют L-фенилаланин в качестве единственного источника углерода и азота, а также в качестве единственного источника углерода на среде с минеральными источниками азота, но утилизируют L-фенилаланин в качестве единственного источника только азота, если он дополняется этанолом в качестве единственного источника углерода. На основе этого свойства *A. baylyi* была разработана селективная среда для выделения этих бактерий из речной воды. Состав и приготовление жидкой селективной среды: в 1 л дистиллированной воды вносят (г/л) L-фенилаланин (CAS 63-91-2) 2,0; NaCl 5,0; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,5; MgSO<sub>4</sub> 0,1; растворяют при нагревании, кипятят 5 мин, добавляют в теплую среду 4 мл 96-градусного этанола, проверяют pH 7,2±0,2; разливают по 40 мл в стерильные флаконы. Плотная селективная среда: содержит на 1 л дистиллированной воды те же ингредиенты и дополнительно 15,0 г агара; приготовление такое же, среду разливают в стерильные чашки Петри. Методика применения селективной питательной среды для выделения *A. baylyi* из речной воды: воду реки Невы засевают в объеме 10 мл во флакон с 40 мл жидкой селективной среды, инкубируют в аэробных условиях при 28°C 48 ч, затем пересевают бактериологической петлей обогащенный материал из флакона на поверхность плотной селективной среды такого же состава в две чашки; инкубируют посе́вы в аэробных условиях при 28°C 48 ч. Отбирают для последующей идентификации по 10 изолированных колоний, пересевают их на секторы питательного агара, инкубируют при 28°C 24 ч и идентифицируют изоляты по комплексу фенотипических признаков, характерных для *A. baylyi*, и/или методом MALDI-ToF MS. В данном примере из 20 выделенных изолятов 19 являлись бактериями *A. baylyi* (95% изолятов). Исследование по указанной методике еще трех проб воды из реки Невы показали результаты одинаковой узкоселективной направленности — 90–95% изолятов составляли бактерии *A. baylyi*.

**Ключевые слова:** *Acinetobacter baylyi*, селективная синтетическая среда, выделение из речной воды, L-фенилаланин, этанол, экология бактерий.

## METHOD OF SELECTIVE ISOLATION OF ACINETOBACTER BAYLYI FROM RIVER WATER

Sivolodskii E.P.<sup>a,b</sup>, Kraeva L.A.<sup>a,b</sup>, Melnikova E.V.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** The aim of the study is to increase the selectivity of isolating *Acinetobacter baylyi* from river water. For developing a selective culture medium, we used 5 strains of *A. baylyi*, 4 of which were isolated from the water of the river

### Адрес для переписки:

Краева Людмила Александровна  
197101, Россия, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14,  
ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера.  
Тел.: 8 (812) 232-94-85. Факс: 8 (812) 498-09-39.  
E-mail: lykraeva@yandex.ru

### Contacts:

Lydmila A. Kraeva  
197101, Russian Federation, St. Petersburg, Mira str., 14,  
St. Petersburg Pasteur Institute.  
Phone: +7 (812) 232-94-85. Fax: +7 (812) 498-09-39.  
E-mail: lykraeva@yandex.ru

### Для цитирования:

Сиволодский Е.П., Краева Л.А., Мельникова Е.В. Метод селективного выделения *Acinetobacter baylyi* из речной воды // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 1. С. 191–196. doi: 10.15789/2220-7619-MOS-2112

### Citation:

Sivolodskii E.P., Kraeva L.A., Melnikova E.V. Method of selective isolation of *Acinetobacter baylyi* from river water // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 1, pp. 191–196. doi: 10.15789/2220-7619-MOS-2112

© Сиволодский Е.П., Краева Л.А., Мельникова Е.В., 2023

DOI: <http://dx.doi.org/10.15789/2220-7619-MOS-2112>

Neva, 1 — from clinical material. *A. baylyi* strains were identified by a combination of phenotypic features and/or using the mass spectrometric method (MALDI-ToF MS). In preliminary studies we found that the bacteria *A. baylyi* utilizes no L-phenylalanine as a single source of carbon and nitrogen, as well as the only source of carbon in a medium with mineral nitrogen sources, but utilizes L-phenylalanine as the only source of nitrogen only if it is supplemented with ethanol as the only source of carbon. Based on this *A. baylyi* property, a selective medium was developed for the isolation of these bacteria from river water. Composition and preparation of liquid selective medium were as follows: 1 liter of distilled water added with L-phenylalanine (CAS 63-91-2) 2.0 (g/l); NaCl 5.0; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2.0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2.5; MgSO<sub>4</sub> 0.1; dissolved while heating, boiled for 5 minutes, 4 ml of 96-degree ethanol was added to a warm medium, pH 7.2±0.2 assessed; 40 ml were poured into sterile vials. Dense selective medium: the same ingredients and extra 15.0 g of agar are added to 1 liter of distilled water; with similar preparation technique, the medium is poured into sterile Petri dishes. Method of application of selective nutrient medium for isolation of *A. baylyi* from river water: water from the river Neva is seeded in a volume of 10 ml into a vial with 40 ml of liquid selective medium, incubated in aerobic conditions at 28°C for 48 h, then the enriched material from the flask is placed with a bacteriological loop onto the surface of same dense selective medium in two flasks; incubated in aerobic conditions at 28°C for 48 h. 10 isolated colonies are selected for subsequent identification, they are transplanted into sectors of nutrient agar, incubated at 28°C 24 h and isolates are identified by a complex of phenotypic characteristic of *A. baylyi*, and/or by the MALDI-ToF MS method. In this case, 19 isolates from 20 were identified as *A. baylyi* (95% of isolates). A study using this technique of three more water samples from the river Neva showed the results of the same narrowly selective orientation — 90–95% of the isolates were bacteria *A. baylyi*.

**Key words:** *Acinetobacter baylyi*, selective synthetic medium, isolation from water, L-phenylalanine, ethanol, ecology of bacteria.

## Введение

Бактерии *Acinetobacter baylyi* были выделены совместно с шестью другими новыми видами рода *Acinetobacter* в 2003 г. в Австралии из активированного ила, однако методика их выделения не сообщалась [3]. Было установлено, что штаммы *A. baylyi* обладают высокой способностью к естественной генетической трансформации. Исключительная легкость естественной трансформации сделали штаммы *A. baylyi* модельным объектом для исследования механизмов естественной трансформации, создания новых методов геномной инженерии, оптимизации генома бактерий [6]. Изучение бактерий *A. baylyi*, выделенных в условиях окружающей среды, перспективно для поиска новых биоремедиаторов загрязнений природной среды и продуцентов полезных веществ, изучения экологии ацинетобактеров, в том числе в северных широтах. Бактерии *A. baylyi* редко выделяют из клинического материала [2], однако описана вспышка внутрибольничной инфекции *A. baylyi* [4] и бактериальное осложнение после операции на головном мозге [7], которые указывают на их значимость как возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Методы узкоселективного выделения бактерий *A. baylyi* из объектов внешней среды и клинического материала неизвестны. В отечественных лабораториях выделяют ацинетобактеры на этанол-аммонийной среде (ЭАС). По нашим данным среда ЭАС обеспечивает рост многих видов ацинетобактеров (*A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. baylyi*, *A. johnsonii* и других), а также бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, и пода-

вляет рост прочих бактерий. Известен метод выделения бактерий *Acinetobacter* из естественных почвенных и водных экосистем с использованием обогащения в минимальной минеральной среде с добавлением 0,1% ацетата натрия в качестве единственного источника углерода [5]. Метод обеспечивал выделение многих видов ацинетобактеров и других бактерий. Известен также метод выделения и идентификации бактерий комплекса *Acinetobacter calcoaceticus* — *Acinetobacter baumannii* с применением селективной синтетической питательной среды «Ацинетобактер фенилаланин агар» [2]. Селективность этой среды обеспечена трофической селекцией ацинетобактеров L-фенилаланином в качестве единственного источника углерода и азота, а также дополнительной селекцией триметопримом. На указанной среде растут преимущественно ацинетобактеры группы *A. baumannii*, однако известен случай выделения одного штамма *A. baylyi* из клинического материала [2].

Цель исследования — повышение селективности выделения бактерий *A. baylyi* из внешней среды (речной воды).

## Материалы и методы

**Штаммы бактерий.** Для разработки селективной среды использовали 4 штамма *A. baylyi* (№ 1–4), выделенных из воды реки Невы, и 1 штамм *A. baylyi* № 223, выделенный из клинического материала (мокроты) в бактериологической лаборатории Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. Для контроля питательных сред применяли штаммы *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 и *Escherichia coli* ATCC 25922. Видовая принад-

лежность бактерий, выделяемых в ходе исследований, была подтверждена методом MALDI-ToF масс-спектрометрии. Указанные штаммы находятся в рабочей коллекции культур Е.П. Сиволодского на кафедре микробиологии Военно-медицинской академии.

**Питательные среды и реактивы.** Для культивирования бактерий использовали Колумбийский агар (НИЦФ, Санкт-Петербург). Этанол-аммонийная среда жидкая (ЭАС-1). К 100 мл дистиллированной воды добавляют фосфат натрия-аммоний 0,15 г; фосфат калия однозамещенного 0,04 г; сульфат калия 0,02 г; хлорид магния 0,02. После стерилизации при 0,5 атм в течение 15 мин добавляют 1,2 мл этилового 96-градусного спирта и разливают асептично по 10 мл в пробирки. Этанол-аммонийная среда плотная (ЭАС-2). Основной состав среды тот же, но до стерилизации добавляют 1,5 г сухого питательного агара 1,8 г и 0,5 мл 1,6% щелочного раствора бромтимолового синего, разливают в стерильные чашки Петри.

**Состав и методика приготовления синтетической селективной питательной среды для выделения *A. baylyi* из речной воды. Жидкая питательная среда.** В 1 л дистиллированной воды вносят (г/л): L-фенилаланин (CAS 63-91-2) 2,0; NaCl 5,0; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,5; MgSO<sub>4</sub> 0,1; растворяют при нагревании, кипятят в течение 5 мин, добавляют в теплую среду 4 мл 96-градусного этанола, проверяют pH 7,2±0,2, разливают по 40 мл в стерильные флаконы. **Плотная питательная среда.** Содержит на 1 л дистиллированной воды те же компоненты и дополнительно 15,0 г агара. Все компоненты растворяют при нагревании, кипятят в течение 5 мин, затем добавляют в теплую среду 4 мл этанола, проверяют pH (7,2±0,2), разливают в стерильные чашки Петри. Бактериологический контроль качества среды проводят при изготовлении среды: суточные бульонные культуры контрольных штаммов *A. baylyi* (позитивный контроль) и *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 (негативный контроль) засевают по одной петле радиальным штрихом на поверхность плотной среды в чашке Петри, инкубируют в аэробных условиях при +28°C в течение 24 ч, учитывают результат: питательная среда пригодна к использованию, если имеется рост бактерий *A. baylyi* и нет роста штаммов *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922. Срок хранения готовых сред 15 суток при температуре от 4°C до 8°C.

**Методика постановки тестов идентификации *A. baylyi*.** Отношение бактерий к окраске по Граму, морфологию и подвижность выявляли микроскопией чистых культур. Рост бактерий при +26°C, +37°C, +41°C, +44°C определяли аэробным культивированием посевов суточ-

ных бульонных культур на Колумбийском агаре с учетом через 48 ч. Гемолитическую активность бактерий исследовали на Колумбийском агаре с кровью барана при +37°C с учетом через 24 ч. Наличие каталазы устанавливали тестом с 3% раствором перекиси водорода. Цитохромоксидазу бактерий выявляли тестом с 1% водным раствором тетраметилпарафенилендиамина по появлению синей окраски бактерий в течение 20 с. Нитратредуктазу определяли микрообъемным методом в питательной среде с 0,1% KNO<sub>3</sub>. Состав среды: пептон ферментативный 0,5 г; NaCl 0,5 г; KNO<sub>3</sub> 0,1 г; вода дистиллированная 100 мл, стерилизация при +121°C 20 мин. По 0,1 мл среды вносят в лунки планшета, затем засевают в лунки по полной петле суточной агаровой культуры исследуемых бактерий, одну лунку не засевают (контроль среды). Посевы инкубируют при +37°C аэробно 3 ч, после чего вносят в каждую лунку реактивы на нитриты — 0,05 мл 0,2% водный раствор риванола, затем 0,05 мл 12% раствор соляной кислоты (приготовленный из концентрированной 36,5% соляной кислоты). Мгновенное появление красной окраски среды в лунке с посевом указывает на наличие нитратредуктазы бактерий, желтая окраска указывает на отсутствие нитратредуктазы; в контрольной среде без посева сохраняется желтая окраска реактива. Выявление уреазы быстрой активности осуществляли, используя среду с мочевиной из микрообъемной тест-системы «Рапид-Энтеро 200» (НИИЭМ им. Пастера, Санкт-Петербург). В лунки планшета вносили по 0,1 мл среды с мочевиной, затем заседали в лунки по одной петле суточной агаровой культуры исследуемых бактерий (одна лунка без посева — контроль среды). Посевы инкубировали при +37°C в течение 3 ч. Появление красной окраски среды в лунке с посевом при сохранении исходной окраски в контрольной лунке указывает на наличие уреазы быстрой активности.

Утилизацию субстратов в качестве единственного источника углерода осуществляли на минимальной минеральной среде. Состав среды (г/л): NH<sub>4</sub>Cl 5,0; NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> 1,0; Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 2,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 3,0; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1,0; MgSO<sub>4</sub> 0,1; агар 15,0; 1,6%-ный водный раствор бромтимолового синего 4 мл, дистиллированная вода 1 л; pH 7,2; стерилизация при +121°C 20 мин. Каждый субстрат вносили по 0,1 г в отдельную колбу с 50 мл стерильной горячей среды, устанавливали pH 7,2; в одну колбу субстрат не вносили (контроль среды), разливали в чашки Петри. Использовали субстраты: D-глюкоза, L-фенилаланин, L-арабиноза, путресцин (Merck, Германия). Суточные агаровые культуры бактерий по полной петле суспендировали в 0,2 мл стерильного 0,85% раствора NaCl в лун-

**Таблица 1. L-фенилаланин как единственный источник азота для роста бактерий *Acinetobacter baylyi* при участии этанола как единственного источника углерода**Table 1. L-phenylalanine as the sole nitrogen source for growth of bacteria *Acinetobacter baylyi* supplemented with ethanol as the sole carbon source

Исследуемые штаммы бактерий Investigated bacterial strains	Минеральная солевая основа среды без азота и углерода* Nitrogen/carbon-free mineral salt based medium*	L-фенилаланин (2 г/л), минеральная солевая основа среды без азота и углерода Nitrogen/carbon-free mineral L-phenylalanine (2 g/l), mineral salt based medium	Этанол (4 мл/л), минеральная солевая основа среды без азота и углерода Nitrogen/carbon-free mineral ethanol (4 ml/l) mineral salt based medium	L-фенилаланин (2 г/л), этанол (4 мл/л), минеральная солевая основа среды без азота и углерода Nitrogen/carbon-free mineral L-phenylalanine (2 g/l) ethanol (4 ml/l) mineral salt based medium
<i>A. baylyi</i> 1	–**	–	–	+***
<i>A. baylyi</i> 2	–	–	–	+
<i>A. baylyi</i> 3	–	–	–	+
<i>A. baylyi</i> 4	–	–	–	+
<i>A. baylyi</i> 223	–	–	–	+

**Примечание.** \* — минеральная солевая основа плотной среды (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>); \*\* — отсутствие роста бактерий; \*\*\* — наличие роста бактерий.

Note. \* — mineral salt base of dense medium (NaCl, Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, MgSO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>); \*\* — no of bacterial growth; \*\*\* — no of bacterial growth.

ках полимерного планшета. Засевали исследуемые культуры по полной петле взвеси бактерий из лунки радиальным штрихом на сектор чашки с субстратом и контролем. Посевы выращивали при +37°C в течение 3 суток, просматривая ежедневно. Положительным результатом утилизации субстрата считали наличие четко выраженного газона бактерий по следу посева при отсутствии роста бактерий на контрольной среде без субстрата.

*Идентификация видов бактерий методом MALDI-ToF MS.* Использовали масс-спектрометр Microflex с базой данных MALDI Biotyper (Bruker Daltonics Inc., Германия) в соответствии с инструкцией по применению.

## Результаты

Известно, что бактерии *A. baylyi* не используют L-фенилаланин для роста в качестве единственного источника углерода на минимальных солевых средах с минеральными источниками азота [3, 5]. Нами в эксперименте показано, что они также не используют L-фенилаланин в качестве единственного источника углерода и азота на минимальной солевой среде (табл. 1). Впервые нами установлено экспериментально, что бактерии *A. baylyi* могут утилизировать для роста L-фенилаланин в качестве единственного источника только азота при участии этанола как единственного источника углерода (табл. 1). На основе

**Таблица 2. Узкоселективный эффект выделения из воды реки Невы бактерий *Acinetobacter baylyi* предлагаемым методом**Table 2. Narrowly selective effect of *Acinetobacter baylyi* isolation from the Neva River water by the method proposed

Виды бактерий изолятов, выделенных из одной пробы воды Species of bacterial isolates, isolated from a single water sample	Число изолятов видов из 20 изученных изолятов одной пробы воды, выделенных на этанол-аммиачной среде The number of isolates of species from 20 studied isolates of a single water sample, isolated on ethanol-ammonia medium	Число изолятов видов из 20 изученных изолятов одной пробы воды, выделенных предлагаемым методом The number of isolates of species from 20 studied isolates of a single water sample, isolated by the proposed method
<i>A. baylyi</i>	0	19
<i>A. johnsoni</i>	8	0
<i>A. radioresistens</i>	1	0
<i>A. haemolyticus</i>	2	0
<i>A. towntri</i>	1	0
<i>A. tandoi</i>	3	0
Бактерии прочих родов ( <i>Pseudomonas</i> , <i>Klebsiella</i> и другие) Bacteria of other genera ( <i>Pseudomonas</i> , <i>Klebsiella</i> and others)	5	1



этого свойства *A. baylyi* была создана селективная среда для выделения бактерий *A. baylyi* из речной воды, состав и приготовление которой изложены в разделе «Материалы и методы».

**Методика применения селективной синтетической питательной среды для выделения бактерий *A. baylyi* из речной воды.** Исследуемый материал — воду реки Невы — засевают в объеме 10 мл во флакон с 40 мл жидкой питательной среды предлагаемого метода, инкубируют в аэробных условиях при +28°C в течение 48 ч, затем пересевают бактериологической петлей обогащенный материал из флакона на поверхность плотной питательной среды такого же состава в двух чашках Петри. Инкубируют посевы в аэробных условиях при +28°C в течение 48 ч, отбирают для последующей видовой идентификации по 10 изолированных колоний, характерных для ацинетобактеров, пересевают их на секторы питательного агара, инкубируют в аэробных условиях при +28°C в течение 24 ч и идентифицируют видовую принадлежность изолятов по комплексу фенотипических признаков и/или методом MALDI-ToF MS. Бактерии *A. baylyi* — грамтрицательные коккобактерии, неподвижные; колонии диаметром 2 мм, выпуклые, светло-серые, мутные; оксидазоотрицательные, каталазоположительные; не ферментируют, но окисляют глюкозу; не имеют нитратредуктазу; имеют быструю уреазу; утилизируют в качестве единственного источника углерода глюкозу; не утилизируют L-фенилаланин, L-арабинозу, путресцин.

Сочетание L-фенилаланина и этанола в питательной среде неожиданно выявило необычный узкоселективный эффект обильного выделения бактерий *A. baylyi* из речной воды — 95% всех изолятов бактерий (19 из 20 изученных колоний), выделенных из одной пробы воды Невы, являлись видом *A. baylyi* (табл. 2).

При сравнительном изучении этой же пробы воды с использованием этанол-аммонийной среды не было выявлено бактерий *A. baylyi*, однако были обнаружены бактерии прочих видов ацинетобактеров и изоляты других родов бактерий (табл. 2). При повторных исследованиях трех проб воды реки Невы были получены результаты одинаковой направленности — предлагаемым методом выделялись преимущественно бактерии *A. baylyi* (90–95% изолятов).

## Список литературы/References

1. Патент № 2769434 Российская Федерация. МПК C12N 1/20 (2006.01), C12Q 1/04 (2006.01), C12R 1/01 (2006). Способ выделения бактерий вида *Acinetobacter baylyi* из речной воды; № 2021130073, заявлено 2021.10.14, опубликовано 2022.03.31 / Сиволодский Е.П. Патентообладатель: Сиволодский Евгений Петрович. 6 с. [Patent No 2769434 Russian Federation, Int.Cl. C12N 1/20 (2006.01), C12Q 1/04 (2006.01), C12R 1/01 (2006/01). Method for isolation of *Acinetobacter baylyi* from river water; № 2021130073, application 2021.10.14; date of publication 2022.03.31 / Sivolodskij E.P. Proprietors Sivolodskij Evgenij Petrovich. 6 p. (In Russ.)]

## Обсуждение

Механизм выявленного узкоселективного выделения бактерий *A. baylyi* из речной воды состоит в том, что известный источник углерода этанол, имеющий широкий спектр трофического селективного действия для большинства видов ацинетобактеров, при дополнении его L-фенилаланином, который является для *A. baylyi* источником только азота, создают более специфические селективные условия, чем универсальные минеральные источники азота ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ) или аминокислоты, как источники углерода и азота. При этом свойство *A. baylyi* использовать L-фенилаланин как источник только азота непосредственно определяет достижение поставленной цели повышения селективности выделения бактерий *A. baylyi* из речной воды. Комплекс минеральных солей среды обеспечивает метаболизм бактерий и направляет его на усвоение этанола и L-фенилаланина. Температура +28°C является оптимальной для культивирования *A. baylyi*. Этап предварительного обогащения речной воды в жидкой питательной среде и время инкубации 48 ч обусловлены разнообразием и малой концентрацией бактерий в воде. Разработанный метод обеспечивает выделение из речной воды неограниченного количества штаммов бактерий *A. baylyi*, что будет способствовать поиску новых биоремедиаторов загрязнений природной среды, изучению экологии ацинетобактеров и эпидемиологии ацинетобактерных инфекций.

## Заключение

Разработан метод селективного выделения бактерий *A. baylyi* из речной воды, позволяющий избирательно выделять из проб воды преимущественно бактерии *A. baylyi*. На способ получен патент Российской Федерации на изобретение № 2769434 [1].

## Благодарности

Авторы благодарят старшего лаборанта кафедры микробиологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова Т.Б. Белогурову за помощь в отборе проб воды из реки Невы.

2. 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, № 5. С. 591–596. [Sivolodskii E.P., Gorelova G.V., Bogoslovskaja S.P., Zueva E.V. Selective syntetic growth medium «*Acinetobacter phenylalanine agar*» for isolation and identification of *Acinetobacter calcoaceticus*–*Acinetobacter baumannii* complex species. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2020, vol. 10, no. 3, pp. 591–596. (In Russ.)] doi: 10.15789/2020-7619-ASS-1177
3. Carr E.L., Kampfer P., Patel B.K.C., Gurtler V., Seviour R.J. Seven novel spesies of *Acinetobacter* isolated from activated sludge. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2003, vol. 53, no. 4, pp. 953–963. doi: 10.1099/ij.s.0.02486-0
4. Chen T.L., Siu L.K., Lee Y.T., Chen C.H., Huang L.Y., Wu R.C., Cho W.L., Fung C.P. *Acinetobacter baylii* as a pathogen for opportunistic infection. *J. Clin. Microbiol.*, 2008, vol. 46, no. 9, pp. 2938–2944. doi: 10.1128/JCM.00232-08
5. Krizova L., Maixnerova M., Sedo O., Nemes A. *Acinetobacter albensi* sp. nov., isolated from natural soil and water ecosystems. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 2015, vol. 65, no. 11, pp. 3905–3915. doi: 10.1099/ij.s.0.00051
6. Suarez G.A., Dugan K.R., Renda B.A., Leonard S.P., Gangavarapu L.S., Barrick J.E. Rapid and assured genetic engineering methods applid to *Acinetobacter baylii* ADPI genome streamlining. *Nucleic Acids Res.*, 2020, vol. 48, no.8, pp. 4505–4600. doi: 10.1093/nar/gkaa204
7. Zhou Z., Du X., Wang L., Yang Q., Fu Y., Yu Y. Clinical carbapenem-resistant *Acinetobacter baylii* strain coharboring blaSIM-1 and blaOXA-23 from China. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2011, vol. 55, no. 11, pp. 5347–5349. doi: 10.1128/AAC.00425-11

---

**Авторы:**

**Сиволодский Е.П.**, д.м.н., профессор кафедры микробиологии ФГБВОУ 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;

**Краева Л.А.**, д.м.н., зав. лабораторией медицинской бактериологии ФБун НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, Санкт-Петербург, Россия; профессор кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;

**Мельникова Е.В.**, врач-бактериолог лаборатории бактериологии Центральной клинико-диагностической лаборатории ФГБВОУ ВО Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ, Санкт-Петербург, Россия.

**Authors:**

**Sivolodskii E.P.**, DSc (Medicine), Professor of the Department of Microbiology, Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation; Senior Researcher, Laboratory of Molecular and Biological Technologies, St. Petersburg Pasteur Institute, St. Petersburg, Russian Federation;

**Kraeva L.A.**, DSc (Medicine), Head of the Laboratory of Medical Bacteriology, St. Petersburg Pasteur Institute; Professor of the Department of Microbiology, Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation;

**Melnikova E.V.**, Bacteriologist, Laboratory of Bacteriology of the Central Clinical Diagnostic Laboratory, Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation.