

МЕТОД ИДЕНТИФИКАЦИИ *ACINETOBACTER BAUMANNII* bv. *TRYPTOPHANDESTRUENS* И ЕГО СУББИОВАРОВ А И В



Е.П. Сиволодский^{1,2}, Л.А. Краева^{1,2}, Е.В. Мельникова¹, Г.В. Горелова¹

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 — повысить диагностическую чувствительность идентификации бактерий *A. baumannii* bv. *tryptophandestrans* и определить распространенность этого биовара и его суббиоваров среди клинических изолятов *A. baumannii*. Объектом исследования были 210 первичных штаммов *A. baumannii*, выделенных в 2021–2022 гг. в бактериологической лаборатории Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова, из них 42 — штаммы *A. baumannii* bv. *tryptophandestrans*. Бактерии биовара *tryptophandestrans* идентифицировали по хромогенной биотрансформации бензоата натрия на плотной питательной среде (г/л): пептон ферментативный 5,0; NaCl 5,0; FeCl₃ 6H₂O (10% водный раствор) 0,1–1 мл; бромтимоловый синий (1,6% водный раствор) 3 мл; агар 15,0; NaOH (4% раствор) 2,6–3 мл; вода дистиллированная 1 л; все компоненты растворяли при нагревании, затем добавляли бензоат натрия (CAS 532-32-1) 1,0–2,0; корректировали pH 7,2±0,2; стерилизовали при 121°C, разливали в чашки. Бактерии суббиоваров А и В биовара *tryptophandestrans* идентифицировали по хромогенной биотрансформации L-триптофана, используя эту же питательную среду с L-триптофаном (1,0–2,0 г/л) вместо бензоата натрия. Обе питательные среды применяли одновременно. Исследуемые культуры *A. baumannii* засеивали петлей на среды в виде бляшки, инкубировали аэробно при 37°C 18–24 ч, затем учитывали результат: наличие темно-коричневой зоны окраски питательной среды вокруг газона бактерий на среде с бензоатом натрия и на среде с L-триптофаном указывало на их принадлежность к суббиовару А биовара *tryptophandestrans*; при наличии зоны темно-коричневой окраски питательной среды вокруг газона бактерий на среде с бензоатом натрия и отсутствии зоны окраски на среде с L-триптофаном идентифицировали биовар *tryptophandestrans* суббиовар В. В результате исследования впервые выявлена хромогенная биотрансформация бензоата натрия (бензойной кислоты) и ее значение как маркера биовара *tryptophandestrans* *A. baumannii*. Обнаружены два суббиовара А и В биовара *tryptophandestrans*. Разработан метод идентификации биовара *tryptophandestrans* *A. baumannii* и его суббиоваров А и В по хромогенной биотрансформации бензоата натрия и L-триптофана, что повышает диагностическую чувствительность метода за счет выявления суббиовара В. Установлена частота распространения бактерий биовара *tryptophandestrans* среди первичных клинических изолятов *A. baumannii* в 2021–2022 гг.: из 210 штаммов *A. baumannii* — 42 (20,0±3,5%) — штаммы bv. *tryptophandestrans*, в том числе суббиовар А — 27 (12,9±2,3%), суббиовар В — 15 (7,1±1,7%).

Ключевые слова: *Acinetobacter baumannii*, биовар *tryptophandestrans*, суббиовары А и В, хромогенная биотрансформация, бензоат натрия, L-триптофан, идентификация.

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., Горелова Г.В. Метод идентификации *Acinetobacter baumannii* bv. *tryptophandestrans* и его суббиоваров А и В // Инфекция и иммунитет. 2023. Т. 13, № 3. С. 591–596.
doi: 10.15789/2220-7619-MFI-9379

Citation:

Sivolodskii E.P., Kraeva L.A., Melnicova E.V., Gorelova G.V. Method for identification of *Acinetobacter baumannii* bv. *tryptophandestrans* and its subbiovars A and B // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2023, vol. 13, no. 3, pp. 591–596. doi: 10.15789/2220-7619-MFI-9379

METHOD FOR IDENTIFICATION OF *ACINETOBACTER BAUMANNII* bv. *TRYPTOPHANDESTRUENS* AND ITS SUBBIOVARS A AND B

Sivolodskii E.P.^{a,b}, Kraeva L.A.^{a,b}, Melnicova E.V.^a, Gorelova G.V.^a

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

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

Abstract. The aim of the study was to increase diagnostic sensitivity for identification of *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus* bacteria and assess prevalence of this biovar and its subbiovars among *A. baumannii* clinical isolates. There were examined 210 primary strains of *A. baumannii* isolated in 2021–2022 at Bacteriological Laboratory of the Military Medical Academy named after S.M. Kirov, of which 42 strains were *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus*. *Tryptophandestrueus* biovar bacteria were identified by chromogenic biotransformation of sodium benzoate on a dense nutrient medium (g/l): peptone enzymatic 5.0; NaCl 5.0; FeCl₃·6H₂O (10% aqueous solution) 0.1–1 ml; bromothymol blue (1.6% aqueous solution) 3 ml; agar 15.0; NaOH (4% solution) 2.6–3 ml; distilled water 1 l; all components were dissolved by heating and added with sodium benzoate (CAS 532-32-1) 1.0–2.0; adjusted pH 7.2±0.2; sterilized at 121°C, poured into Petri dishes. Bacteria of subbiovars A and B of biovar *tryptophandestrueus* were identified by chromogenic biotransformation of L-tryptophan using the same nutrient medium supplemented with L-tryptophan (1.0–2.0 g/l) instead of sodium benzoate. Both nutrient media were used simultaneously. The *A. baumannii* cultures studied were seeded with a loop on the media sectors in the form of a plaque, incubated aerobically at 37°C for 18–24 hours, and analyzed final data as follows: the presence of a dark brown color zone of the nutrient medium around bacterial lawn on sodium benzoate- and L-tryptophan-containing medium indicated detection of subbiovar A of the *tryptophandestrueus* biovar; in case of dark brown zone on sodium benzoate- but not L-tryptophan-containing medium around bacterial lawn identified biovar *tryptophandestrueus* subbiovar B. The study revealed for the first time the chromogenic biotransformation of sodium benzoate (benzoic acid) and its importance as a marker for the biovar *tryptophandestrueus A. baumannii*. Two subbiovars A and B of the *tryptophandestrueus* biovar were found. A method was developed to identify the biovar *tryptophandestrueus A. baumannii* and its subbiovars A and B by chromogenic biotransformation of sodium benzoate and L-tryptophan, which enhances diagnostic sensitivity by detecting the subbiovar B. The frequency of *tryptophandestrueus* biovar distribution among primary clinical isolates of *A. baumannii* in 2021–2022 was determined: out of 210 strains of *A. baumannii* were 42 (20.0±3.5%) strains of bv. *tryptophandestrueus* including subbiovar A — 27 (12.9±2.3%), subbiovar B — 15 (7.1±1.7%).

Key words: *Acinetobacter baumannii*, biovar *tryptophandestrueus*, subbiovars A and B, chromogenic biotransformation, sodium benzoate, L-tryptophan, identification.

Введение

В 2021 г. было опубликовано описание бактерий биовара *tryptophandestrueus A. baumannii*, осуществляющего хромогенную биотрансформацию L-триптофана [1]. Авторы предложили проводить идентификацию бактерий этого биовара тестами на хромогенную биотрансформацию L-триптофана и отсутствие утилизации гиппурата натрия, что доступно лабораториям любого уровня. Тест на хромогенную биотрансформацию антралиновой кислоты использовать не предлагали, ввиду ограничения доступа лабораторий к этому веществу как прекурсор наркотических средств. Дальнейшие наши исследования показали значительное распространение бактерий биовара *tryptophandestrueus* среди клинических изолятов *A. baumannii*, однако обнаружили единичные штаммы этого биовара отрицательные по хромогенной биотрансформации L-триптофана, что снижало диагностическую чувствительность идентификации.

Цель данного исследования — повысить диагностическую чувствительность метода идентификации бактерий *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus* и определить распространенность этого биовара и его суббиоаров среди клинических изолятов *A. baumannii*.

Материалы и методы

Штаммы бактерий. Объектами исследования были 210 первичных штаммов *A. baumannii*, выделенных в 2021 и 2022 гг. в бактериологической лаборатории Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова. Из них 42 первичных штамма были идентифицированы на кафедре микробиологии академии как *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus*. В сравнительных исследованиях использовали штаммы других видов *Acinetobacter*: *A. nosocomialis* (n = 8), *A. pittii* (n = 8), *A. calcoaceticus* (n = 1), а также 34 видов других 22 родов (*Pseudomonas*, *Moraxella*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Alcaligenes*, *Shewanella*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Hafnia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Morganella*, *Providentia*, *Escherichia*, *Shigella*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Bacillus*). Видовая принадлежность всех штаммов была подтверждена методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной ионизацией (MALDI-ToF MS) в Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова и НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера. Все штаммы *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus* 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)

Питательная среда для идентификации бактерий биовара *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus* по хромогенной биотрансформации бензоата натрия и методика ее применения. Состав и приготовление питательной среды. В 1 л дистиллированной воды вносят: пептон ферментативный 5,0 г; NaCl 5,0 г; FeCl₃ 6H₂O (10% водный раствор) 0,1–1,0 мл; бромтимоловый синий (1,6% водный раствор) 3 мл; агар микробиологический 15,0 г; NaOH 4% раствор 2,6–3,0 мл; растворяют при нагревании все компоненты, затем добавляют бензоат натрия (CAS 532-32-1) 1,0–2,0 г; корректируют до pH 7,2±0,2; стерилизуют при 121°C в течение 20 мин, разливают в стерильные чашки Петри. Питательная среда имеет зеленую окраску, прозрачная, пригодна к использованию в течение 30 сут при хранении от 4°C до 8°C. Контроль питательной среды при приготовлении: суточные культуры контрольных штаммов (клинические штаммы *A. baumannii* и *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus*) засевают петлей в виде бляшки диаметром 5 мм на поверхность исследуемой среды в чашке Петри, инкубируют аэробно при 37°C в течение 18 ч, учитывают результат: питательная среда пригодна к использованию, если вокруг газона бактерий штамма *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus* имеется четко выраженная зона темно-коричневой окраски питательной среды (положительный контроль) при отсутствии зоны окраски питательной среды вокруг газона бактерий штамма *A. baumannii* (отрицательный контроль).

Применение питательной среды. Исследуемый материал — суточные агаровые культуры *A. baumannii* засевают петлей на поверхность питательной среды в виде бляшки в отдельных секторах чашки Петри (1/8 часть чашки), инкубируют аэробно при 37°C в течение 18 ч, затем учитывают результат. Наличие вокруг газона бактерий зоны темно-коричневой окраски питательной среды указывает на принадлежность данного штамма *A. baumannii* к биовару *tryptophandestrueus*.

Питательная среда для идентификации суббиоваров А и В бактерий *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus* по хромогенной биотрансформации L-триптофана и методика ее применения. Состав и приготовление питательной среды такие же, как питательной среды с бензоатом натрия, в которой бензоат натрия заменен L-триптофаном в равном количестве (1,0–2,0 г). Для биологического контроля питательной среды используют клинические штаммы *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus* положительные по хромогенной биотрансформации L-триптофана и отрицательные по хромогенной биотрансформации L-триптофана.

Применение питательной среды. Питательную среду для хромогенной биотрансформации L-триптофана используют совместно с питательной средой для хромогенной биотрансформации бензоата натрия по одинаковой методике. Наличие вокруг газона штамма бактерий *A. baumannii* темно-коричневой окраски среды на питательной среде с бензоатом натрия и питательной среде с L-триптофаном указывает на принадлежность штамма к биовару *tryptophandestrueus* суббиовару А. Наличие вокруг газона штамма *A. baumannii* темно-коричневой окраски среды на питательной среде с бензоатом натрия и отсутствие окраски среды на питательной среде с L-триптофаном указывает на принадлежность штамма к биовару *tryptophandestrueus* суббиовару В.

Питательная среда для выявления *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus* по хромогенной биотрансформации антралиновой кислоты. Состав и применение среды такие же, как среды с бензоатом натрия, в которой бензоат натрия заменен антралиновой кислотой (1 г/л) и увеличено количество NaOH для приведения pH к 7,2. Применение среды такое же, как среды с бензоатом натрия. Появление темно-коричневой окраски питательной среды вокруг газона бактерий через 18–24 ч инкубации при 37°C идентифицирует бактерии *A. baumannii* bv. *tryptophandestrueus*.

Методика постановки тестов для фенотипической идентификации бактерий группы *A. baumannii*. Отношение бактерий к окраске по Граму, морфологию и подвижность изучали микроскопическим методом. Наличие каталазы устанавливали тестом с 3% раствором пероксида водорода. Цитохромоксидазу определяли тестом с 1% водным раствором тетраметилпарафенилендиамина по появлению синей окраски бактерий через 20 с. Для проведения окислительно-ферментативного теста с глюкозой использовали среду Хью–Лейфсона. Нитратредуктазу и быструю уреазу (в течение 3 ч) выявляли, используя среды и реактивы микрообъемной тест-системы «Рапид-Энтеро» (НИИЭМ имени Пастера). Утилизацию субстратов в качестве единственных источников углерода проводили на плотной минимальной солевой среде по методике, изложенной в [3]. Использовали следующие субстраты: D-глюкоза, бензоат натрия, L-арабиноза, гиппурат натрия, антралиновая кислота, L-триптофан, L-орнитин, L-фенилаланин отечественного производства и путресцин производства Merck (Германия).

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

Результаты

При исследовании отношения бактерий биовара *tryptophandestruens* *A. baumannii* к различным ароматическим соединениям нами неожиданно была обнаружена интенсивная хромогенная биотрансформация ими бензоата натрия, а также бензоата калия и бензойной кислоты. Темно-коричневая хромогенная реакция с бензоатом натрия полностью совпала у всех штаммов биовара с хромогенной биотрансформацией антралиловой кислоты, характерной для этого биовара. Высокая специфичность хромогенной биотрансформации бензоата натрия была подтверждена отсутствием ее у остальных штаммов *A. baumannii* (кроме биовара), у прочих видов ацинетобактеров *A. nosocomialis* (n = 8), *A. pittii* (n = 8), *A. soli* (n = 4), *A. baylyi* (n = 10), *A. calcoaceticus* (n = 1), а также 34 видов других 22 родов (*Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Alcaligenes*, *Shewanella*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Morganella*, *Providentia*, *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella*, *Kluyvera*, *Serratia*, *Hafnia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Yersinia*, *Vibrio*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*). Учитывая безопасность и широкую доступность бензоата натрия в качестве консерванта пищевых продуктов (пищевая добавка Е 211), это вещество было использовано нами для метода идентификации биовара *tryptophandestruens* *A. baumannii*. Были созданы две плотных хромогенных питательных среды, содержащих отдельно бензоат натрия для выявления по его биотрансформации биовара *tryptophandestruens* и L-триптофан для выявления по его биотрансформации суббиоваров этого биовара. Методика приготовления этих сред и их совместного применения изложена в разделе «Материалы и методы».

Предложенным методом были идентифицированы среди 210 первичных клинических изолятов *A. baumannii*, выделенных в Санкт-Петербурге

в 2021 и 2022 гг., 42 штамма *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens*, в том числе впервые обнаружены его суббиовары А (27 штаммов) и В (15 штаммов). Установлены фенотипические признаки биовара и его суббиоваров А и В. Все штаммы биовара *tryptophandestruens* вызывали хромогенную биотрансформацию бензоата натрия, антралиловой кислоты и не утилизировали в качестве единственного источника углерода L-арабинозу и гиппурат натрия. Штаммы суббиовара А отличались наличием хромогенной биотрансформации L-триптофана, а также не утилизировали L-орнитин и путресцин. Штаммы суббиовара В отличались отсутствием хромогенной биотрансформации L-триптофана, а также утилизировали L-орнитин и путресцин (табл. 1). Все штаммы биовара *tryptophandestruens* не утилизировали бензоат натрия, антралиловую кислоту, L-триптофан, но интенсивно утилизировали L-фенилаланин.

Разработанным методом идентификации биовара *tryptophandestruens* *A. baumannii* установлена частота распространения этого биовара и его суббиоваров среди первичных клинических изолятов *A. baumannii*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2021 и 2022 гг. (табл. 2).

В 2021 г. среди 108 штаммов *A. baumannii* выявлены 28 штаммов биовара (25,9 ± 4,2%), в том числе суббиовара А — 20 штаммов (18,5 ± 3,7%), суббиовара В — 8 штаммов (7,4 ± 2,5%). В 2022 г. среди 102 штаммов *A. baumannii* были обнаружены 14 штаммов биовара (13,7 ± 3,4%), в том числе 7 штаммов суббиовара А (6,85 ± 2,5%) и 7 штаммов суббиовара В (6,85 ± 2,5%). Всего за 2021 и 2022 гг. среди 210 штаммов *A. baumannii* были выделены 42 штамма биовара *tryptophandestruens* (20,0 ± 3,5%), в том числе суббиовара А — 27 штаммов (12,9 ± 2,3%) и суббиовара В — 15 штаммов (7,1 ± 1,7%).

Диагностическая чувствительность выявления штаммов биовара *tryptophandestruens* *A. baumannii* повысилась за счет дополнительно выявления штаммов суббиовара В.

Таблица 1. Фенотипические признаки штаммов *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* суббиоваров А и В
Table 1. Phenotypic features *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* subbiovars A and B strains

Фенотипические признаки Phenotype features	<i>A. baumannii</i> bv. <i>tryptophandestruens</i> subbiovar A (n = 27)	<i>A. baumannii</i> bv. <i>tryptophandestruens</i> subbiovar B (n = 15)
Хромогенная биотрансформация/Chromogenic biotransformation		
Бензоат натрия/Sodium benzoate	+*	+
Антралиловая кислота/Anthranilic acid	+	+
L-Триптофан/L-Tryptophan	+	–
Утилизация/Utilization		
L-Арабиноза/L-Arabinose	–**	
Гиппурат натрия/Sodium hippurate		
L-Орнитин/L-Ornithine		+
Путресцин/Putrescine	–	+

Примечание. * — все штаммы положительные; ** — все штаммы отрицательные.
Note. * — all strains are positive; ** — all strains are negative.

Таблица 2. Частота штаммов *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* среди первичных штаммов *A. baumannii*, выделенных в 2021–2022 гг.Table 2. Frequency of *A. baumannii* bv. *tryptophandestruens* strains among primary *A. baumannii* strains isolated in 2021–2022 years

Годы выделения штаммов Years of strains isolation	Число первичных штаммов <i>A. baumannii</i> Number of primary strains of <i>A. baumannii</i>	Из них штаммов <i>A. baumannii</i> bv. <i>tryptophandestruens</i> , абс. M±m% Of these, <i>A. baumannii</i> bv. <i>tryptophandestruens</i> strains abs. M±m%		
		суббиовар А subbiovar A	суббиовар В subbiovar B	всего биовар <i>tryptophandestruens</i> total biovar <i>tryptophandestruens</i>
2021	108	20 18,5±3,7	8 7,4±2,5	28 25,9±4,2
2022	102	7 6,85±2,5	7 6,85±2,5	14 13,7±3,4
2021 и 2022	210	27 12,9±2,3	15 7,1±1,7	42 20,0±3,5

Обсуждение

Нами впервые выявлено свойство бактерий биовара *tryptophandestruens A. baumannii* осуществлять хромогенную биотрансформацию бензойной кислоты и ее солей — бензоата натрия и бензоата калия. Хромогенную биотрансформацию бензоата натрия вызывали все штаммы этого биовара и не вызывали все изученные штаммы других видов ацинетобактеров (*A. pittii*, *A. nosocomialis*, *A. calcoaceticus*, *A. soli*, *A. baylyi*) и 34 видов других 22 родов бактерий. Ранее нами была выявлена хромогенная биотрансформация антралиловой кислоты (ортоаминобензойной кислоты) всеми штаммами этого биовара *A. baumannii* [3], что указывает на равную таксономическую значимость этих тестов, специфичность и возможность использовать признак хромогенной биотрансформации бензоата натрия в качестве маркера биовара *tryptophandestruens A. baumannii*. Известно, что аэробная дегградация L-триптофана до антранилата (антранилатный путь) осуществляется некоторыми бактериями (*Pseudomonas aeruginosa*, *Ralstonia metallidurans*) трехступенчато с участием ферментов триптофан-2,3-диоксигеназы (ген *kynA*), кинуренинформамидазы (ген *kynB*) и кинурениназы (ген *kynU*) [4]. Химическая сущность дальнейших химических реакций антранилата натрия и бензоата натрия при их хромогенной биотрансформации неизвестна.

В ходе исследований были обнаружены два суббиовара биовара *tryptophandestruens A. baumannii*. Оба суббиовара вызывали хромогенную биотрансформацию бензоата натрия и антралиловой кислоты, не утилизировали L-арабинозу и гиппурат натрия; суббиовар А отличался наличием хромогенной биотрансформации L-триптофана, не утилизировал L-орнитин и путресцин; суббиовар В отличался отсутствием хромогенной биотрансформации L-триптофана, утилизировал L-орнитин и путресцин. Оба суббиовара интенсивно утили-

лизовали L-фенилаланин, что позволяет выделять их на селективной питательной среде «Ацинетобактер фенилаланин агар» [2].

Разработан и апробирован метод идентификации биовара *tryptophandestruens A. baumannii* и его суббиоваров двумя тестами на плотных хромогенных средах. Положительный результат теста на хромогенную биотрансформацию бензоата натрия на хромогенной среде с бензоатом натрия выявляет принадлежность штамма бактерий к биовару *tryptophandestruens A. baumannii*. Положительный результат теста на хромогенную биотрансформацию L-триптофана на хромогенной среде с L-триптофаном указывает на принадлежность штамма бактерий к суббиовару А этого биовара. Отрицательный результат теста на хромогенную биотрансформацию L-триптофана на хромогенной среде с L-триптофаном свидетельствует о принадлежности штамма бактерий к суббиовару В. Метод обеспечивает повышение диагностической чувствительности идентификации биовара за счет дополнительного выявления суббиовара В в сравнении с предыдущей методикой, в которой использовалась только хромогенная среда с L-триптофаном. Метод доступен для лабораторий любого уровня и может применяться для изучения экологии и эпидемиологии возбудителей ацинетобактерной инфекции. Данным методом была установлена частота распространения бактерий биовара *tryptophandestruens* среди первичных клинических изолятов *A. baumannii* в Санкт-Петербурге: в 2021–2022 гг. среди 210 изолятов были обнаружены 42 штамма биовара *tryptophandestruens* (20,0±3,5%), в том числе 27 штаммов (12,9±2,3%) суббиовара А и 15 штаммов (7,1±1,7%) суббиовара В.

В связи с существенным значением в патогенезе заболеваний человека нарушений метаболизма бензойной кислоты и ароматических аминокислот [1], представляет интерес исследование химического механизма хромогенной биотрансформации бензоата натрия, антра-

ниловой кислоты, L-триптофана бактериями биовара *tryptophandestruens* A. *baumannii*, а также изучение особенностей их патогенности и лекарственной резистентности.

Заключение

Впервые выявлена хромогенная биотрансформация бензоата натрия (бензойной кислоты) бактериями биовара *tryptophandestruens* A. *baumannii* и установлена таксономическая значимость ее как маркера этого биовара. Обнаружены два суббиовара бактерий биовара *tryptophandestruens* и определены их отличительные признаки. Разработан метод идентификации бактерий биовара *tryptophandestruens* A. *baumannii* и его суббиоваров А и В хромогенными средами с бензоатом натрия

и L-триптофаном. Повышена диагностическая чувствительность идентификации бактерий биовара *tryptophandestruens* ввиду дополнительного выявления бактерий суббиовара В. Установлена частота распространения штаммов биовара *tryptophandestruens* и его суббиоваров среди первичных клинических изолятов A. *baumannii* в Санкт-Петербурге в 2021–2022 гг.: штаммов биовара — $20,0 \pm 3,5\%$, в том числе суббиовара А — $12,9 \pm 2,3\%$, суббиовара В — $7,1 \pm 1,7\%$.

Благодарности

Авторы благодарят старшего лаборанта кафедры микробиологии Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова Белогурову Татьяну Борисовну за помощь в исследованиях.

Список литературы/References

1. Белобородова Н.В., Осипов А.А., Бедова А.Ю. Биологические свойства некоторых низкомолекулярных ароматических микробных метаболитов, ассоциированных с сепсисом // Антибиотики и химиотерапия. 2013. Т. 58, № 7–8. С. 48–61. [Beloborodova N.V., Osipov A.A., Belova A.Yu. Biological properties of some sepsis-associated low molecular aromatic microbial metabolism. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*, 2013, vol. 58, no. 7–8, pp. 48–61 (In Russ.)]
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. 5, pp. 591–596. (In Russ.)] doi: 10.15789/2020-7619-ASS-1177
3. Сиволодский Е.П., Краева Л.А., Старкова Д.А., Михайлоов Н.В., Горелова Г.А. *Acinetobacter baumannii* bv. *Tryptophandestruens* bv. nov., выделенный из клинического материала // Инфекция и иммунитет. 2021. Т. 11, № 5. С. 965–972. [Sivolodskii E.P., Kraeva L.A., Starkova D.A., Mikhailov N.V., Gorelova G.V. *Acinetobacter baumannii* bv. *Tryptophandestruens* bv. nov., isolated from clinical samples. *Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, vol. 11, no. 5, pp. 965–972 (In Russ.)] doi: 10.15789/2220-7619-ABB-1676
4. Kurnasov O., Jablonski L., Polanuyer B., Dorrestein P., Begley T., Osterman A. Aerobic tryptophan degradation pathway in bacteria: novel kynurenine formamidase. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2003, vol. 227, no. 2. pp. 213–227. doi: 10.1016/S0378-1097(03)00684-0

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;

Горелова Г.В., зав. лабораторией 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;

Gorelova G.V., Head of the Laboratory of Bacteriology, Central Clinical Diagnostic Laboratory, Military Medical Academy named after S.M. Kirov, St. Petersburg, Russian Federation.