

Л.В.Домотенко, Я.В.Подкопаев, М.В.Храмов, И.А.Дятлов

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ЧУМЫ

ФГУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», Оболensk

Проведен анализ отечественной и зарубежной литературы. Рассмотрены питательные среды для культивирования, выделения и дифференциации чумного микроба. Освещено современное состояние производства питательных сред.

Ключевые слова: чумной микроб, питательные среды.

Со времени публикации последней монографии по чуме [5], в которой приведены рекомендации по выбору питательных сред для диагностики заболевания, прошло уже более 10 лет. Еще старше монография Н.И.Николаева [14], содержащая подробное описание питательных сред для диагностики, выделения и дифференциации возбудителя чумы. Ряд сред, приведенных в книге, до сих пор находятся на вооружении исследователей. Но за это время появились и новые среды, и новые рекомендации по использованию уже известных.

Для диагностики чумы используют как жидкие, так и агаризованные питательные среды. Основная их роль – поддерживать рост возбудителя при выделении его из патологического материала или из объектов окружающей среды. Питательные среды также необходимы для дифференциации патогена и для накопления его биомассы при проведении дальнейших молекулярно-биологических или генетических исследований. Питательные среды используют в производстве вакцин и при изучении биохимических свойств микроба.

Основное требование, предъявляемое к питательным средам, – это способность обеспечивать проявление типичных культурально-морфологических свойств возбудителя заболевания.

Возбудитель чумы – *Yersinia pestis* – короткая, прямая, с закругленными концами палочка длиной 1–3 мкм и шириной 0,3–0,7 мкм. Отличается большим полиморфизмом. Спор не образует. В организме животных и людей и на сыровороточном или кровяном агаре при температуре 37 °С обычно образует капсулу. Грамотрицательна. Кислотоустойчивостью не обладает. Не имеет жгутиков и не обладает активной подвижностью [5].

В связи с относительной неприхотливостью растет на синтетических средах с аминокислотами (в качестве источников азота) и ферментируемыми углеводами. В витаминах и азотистых основаниях, как правило, не нуждается. Однако аминокислотные потребности у штаммов из разных природных очагов сильно варьируют. Кроме того, они могут меняться в зависимости от температуры культивирования.

Y. pestis – факультативный анаэроб. Для роста из небольших посевных доз на плотных средах нуждается в понижении окислительно-восстановительного потенциала, достигаемом, в частности, за счет добавления сульфита натрия, крови или гемина. На жидких средах хорошо развивается при аэрации.

Оптimum температуры роста – 26–28 °С. Может расти на искусственных средах при температуре от -2 °С до +45 °С, в диапазоне рН от 5,0 до 9,6. Optimum рН – 7,2–7,6; вместе с тем при рН 6,6–8,0 наблюдается достаточно хороший рост микроба [47].

На поверхности агара сначала образует прозрачные колонии в виде «битого стекла» и «кружевных платочков», а затем вырастает в виде блестящих, серовато-белых, полупрозрачных колоний с выпуклым мелкозернистым центром и плоским, кружевным, «фестончатым» краем (R-форма). В англоязычной литературе колонии описывают как «кованый металл или медь» («hammered cooper»), которые при старении приобретают вид «глазуньи» («fried egg») [40].

При температуре 26–28 °С колонии суховаты, а выросшие при температуре 37 °С, имеют блестящую маслянистую консистенцию. По мере старения центр их становится более грубым, менее прозрачным и приобретает коричневатый оттенок.

На кровяном агаре чумной микроб растет в виде полупрозрачных серовато-белых колоний, обычно очень мелких, трудно различимых через 24 ч. После 48 ч инкубации размер колоний увеличивается до 1–2 мм. Они приобретают цвет от серовато-белого до желтого и теряют прозрачность. Вокруг колоний иногда наблюдаются зоны гемолиза.

Через 48 ч инкубации при температуре 37 °С колонии на кровяном агаре не имеют хорошо выраженной кружевной периферии.

В бульоне обычно образует хлопьевидный или порошковидный, легко распадающийся при встряхивании осадок, жидкость над ним остается прозрачной. Часто образует нежную пленку, в старых культурах от нее вглубь среды могут отходить нити – «стактиты».

Как видно из приведенных выше фактов, чумной микроб не предъявляет особых требований ни к

условиям культивирования, ни к питательным средам.

Питательные среды для культивирования чумного микроба. Эти среды, не содержащие селективных добавок, пригодны для наращивания биомассы штаммов и выделения *Y. pestis* из клинического материала, который обычно бывает стерильным (кровь, лимфатическая жидкость, бубонное содержимое, спинно-мозговая жидкость), или из биопробных животных, из которых ожидается рост чистой культуры.

В литературе приведены прописи большого количества питательных сред данного назначения, основными компонентами которых являются белковая основа или иной источник аминокислот, сахара, стимуляторы роста. Выбор сред зависит от задач исследования и определяется национальными регламентирующими документами и документами ВОЗ.

Стандартной средой, рекомендованной ВОЗ и Центром по контролю за заболеваемостью (CDC), является кровяной агар, приготовленный из овечьей крови (Sheep blood agar, SBA) [29, 30]. В случае отсутствия овечьей крови средами выбора могут служить агар на основе сердечно-мозговой вытяжки (brain heart infusion, BHI), питательный агар (nutrient agar) и триптиказо-соевый агар (trypticase soy agar). Чумной микроб растет на них медленнее, чем на SBA, и формирует колонии меньшего размера.

В нашей стране согласно МУ 3.1.1098-02 по организации и проведению эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории РФ для диагностических целей рекомендовано использовать слабощелочной (рН 7,0–7,2) питательный агар с содержанием аминного азота 60–120 мг% [15]. Более конкретный выбор питательной среды осуществляется в соответствии с личными предпочтениями исследователя и/или лабораторными традициями. При этом обязательно должен быть проведен контроль каждой серии среды на чувствительность к росту чумного микроба согласно действующим нормативно-методическим документам [10].

Традиционными средами для диагностики чумного микроба, ставшими уже классикой, являются среды на основе перевара Хоттингера [4, 13, 18] – ферментативного гидролизата мяса, полученного с помощью поджелудочной железы. При приготовлении сред используют перевары с достаточно высокой степенью расщепления белка – 55–65 %, разведенные до указанной выше концентрации аминного азота. Для повышения ростовых характеристик в среды дополнительно вводят гемолизированную кровь в концентрации до 5–6 %.

Нестандартность мясных переваров, их дороговизна побудили многих исследователей заняться поиском заменителей белка мяса для получения из них гидролизатов – белковой основы питательных сред.

Белковая основа. В качестве белковой основы питательных сред для чумного микроба предложены гидролизаты разнообразных субстратов. Основным

критерием при выборе источника белка были доступность и стандартность сырья. Первым в этом списке стоит казеин как наиболее удовлетворяющее этим требованиям белковое сырье. На основе казеина предложены различные рецептуры получения кислотных и ферментативных гидролизатов. Для роста чумного микроба, не обладающего выраженной протеолитической активностью, наиболее пригодными являются гидролизаты с достаточно высокой степенью расщепления. В работах ряда авторов [12, 46, 48] и др. описано культивирование *Y. pestis* в средах, содержащих ферментативные гидролизаты казеина. К. Higuchi и С.Е. Carlin [33] показали возможность использования сернокислотного гидролизата казеина средней степени расщепления в концентрации 2,5 % в составе питательной среды, что значительно увеличивало выход биомассы и обеспечивало рост *Y. pestis* при температуре 37 °С.

Гидролизаты казеина входят в состав многих коммерческих сред, используемых в диагностике чумы. Все среды, рекомендованные ВОЗ, содержат в своем составе те или иные гидролизаты казеина.

Культуры чумного микроба, выращенные на казеиновых средах как агаровых, так и бульонных, имеют типичную морфологию, сохраняют агглютинабельность, вирулентность, иммуногенность, биохимические свойства. Снижение вирулентности на казеиновых средах и средах Хоттингера происходит одинаково. Высокая стабильность казеиновых сред позволила рекомендовать их для длительного хранения культур чумного микроба, а также использовать в качестве диагностических.

Перспективными для приготовления питательных сред оказались гидролизаты рыбы и отходов рыбной промышленности [2, 11, 21]. В настоящее время крупные производства питательных сред во ФГУН ГНЦПМБ (Оболensk) и НПО «Питательные среды» (Махачкала) базируются на гидролизатах рыбной муки и кильки каспийской, соответственно.

Доступным, стандартным и дешевым сырьем для получения белковых гидролизатов являются дрожжи. Организованное в 50–60-х годах в нашей стране производство кормовых дрожжей на углеводородах нефти (БВК) решало вопрос о стандартном и недорогом белке. В то время были разработаны технологии промышленного изготовления гидролизатов из кормовых дрожжей и питательных сред на их основе. Дрожжевой экстракт стал широко использоваться как стимулятор роста микроорганизмов. Показано его стимулирующее влияние в составе питательных сред, основой которых является пептон «Д». Предложено добавлять дрожжевые экстракты даже к средам Хоттингера для восстановления качества питательных сред, хранившихся более 15 сут [6].

В результате изменения внутренней политики в нашей стране в конце прошлого века были закрыты заводы по производству БВК, и промышленность лишилась крупнотоннажного источника полноценного белка.

Пекарные и пивные дрожжи, являющиеся также источником полноценного белка, используются только для производства экстрактов. В настоящее время экстракт пекарных дрожжей является одним из основных стимуляторов роста для широкого круга микроорганизмов и добавляется в состав многих питательных сред.

Другие виды непищевого источников белка: соя, подсолнечный и кукурузный шроты, отходы мясной промышленности (кровь животных, кровяные сгустки), вакцинно-сывороточного производства (куриные эмбрионы, эритроцитарная масса), плаценты, крове-заменители с истекшим сроком годности и др. были широко изучены в нашей стране. Разработанные гидролизаты на их основе были предложены в рецептуры питательных сред для чумного микроба [23]. Но эти среды не нашли широкого применения.

Стимуляторы роста. Культура чумного микроба активно реагирует на наличие в среде стимуляторов роста. В качестве таковых часто добавляют гемолизированную кровь, сульфит натрия, стимулятор из сарцин (стимулятор Карпузиди), сернокислое закисное железо, перевар Филдса, манифестатор, молибденовокислый аммоний, гидролизат микробной массы *Y. pestis* EV [3, 8, 16, 17, 19, 20]. В очагах, где циркулируют тиаминзависимые штаммы, в качестве стимулятора роста используют витамин В₁ в концентрации 0,0001 мг% [5] или синтетическую среду 199 (3 мл на 100 мл среды).

Важно отметить, что влияние того или иного стимулятора или группы стимуляторов на рост чумного микроба зависит от природы белковой основы питательной среды.

Синтетические среды. Для культивирования чумного микроба применяются и синтетические питательные среды. Данные об удачном применении таких сред встречаются в работах отечественных и зарубежных исследователей [9, 28, 42]. Для роста чумного микроба при температуре 30 °С достаточно наличия в среде фенилаланина, валина, изолейцина, метионина и тиосульфата. В состав синтетических питательных сред, предназначенных для культивирования чумного микроба при температуре 37 °С, входит уже от 8 до 15 аминокислот, биотин и пантотенат [32].

В.И.Вейнблат и соавт. (1972) предложили синтетическую питательную среду для выращивания чумного микроба при 28 и 37 °С. Аминокислотный состав среды примерно соответствовал десятикратному содержанию аминокислот в крови человека.

Бульоны. *Y. pestis* хорошо растет в обогащенных бульонах, типа Хоттингера [7], сердечно-мозговой вытяжки (ВН1), триптиказо-соевого или питательно-го бульонов [45]. Через 24 ч культивирования микроб образует хлопьевидный или порошкообразный осадок на фоне прозрачного бульона. Часто образует нежную пленку; в старых культурах от нее вглубь среды могут отходить нити – «сталактиты».

Появление характерного роста микроба в прозрачном бульоне используют для идентификации

Y. pestis. Оптимальное значение рН бульона 7,2-7,6. Время генерации микроба в ВН1 бульоне – 1,25 ч.

В связи со специфическим ростом чумного микроба в бульоне последние могут быть использованы при выделении возбудителя. Но не как самостоятельная процедура, а лишь совместно с выделением культуры на агаризованной среде.

Селективные среды для выделения чумного микроба. Попытки создания селективных агаризованных сред для выделения *Y. pestis* относятся к началу прошлого века. Еще в 1917 г. J.G.Drennan [31] предложил использовать кристаллический фиолетовый в концентрации 1/700 % для придания ингибирующих свойств питательному агару из сердечного настоя.

В работах G.LaRose [36] и L.Kirschner [34] описано успешное использование питательной среды, содержащей соли желчных кислот, для выделения чумного микроба. Вместе с тем на данной среде отмечается появление нетипичных колоний *Y. pestis*, а соли желчных кислот ингибируют лишь ограниченное количество видов микроорганизмов.

Среда, предложенная E.J.Morris [39], содержала уже несколько селективных добавок: новобиоцин, эритромицин и циклогексимид, ингибирующих как грамположительные и грамотрицательные бактерии, так и грибы.

R.F.Knisely *et al.* [35] усилили ингибирующее действие указанного выше селективного набора добавлением этиленвиолета, азида натрия и нистатина и успешно использовали среду для прямого выделения *Y. pestis* из сильно загрязненного материала.

J.Markenson и S.Ben-Efraim [38] предложили среду, содержащую свежую желчь, а гомогенизированные органы павших животных перед посевом обрабатывали раствором теллурида калия (150 мкг/мл). Данная процедура значительно снижала количество грамотрицательных контаминантов.

Для подавления посторонней микрофлоры (протей и некоторых других бактерий) также предложены малахитовый зеленый [1] в концентрации 1:100000–800000 и борная кислота [14]. Перед использованием генцианвиолета рекомендуется определять рабочую дозу для каждой серии препарата [15] перед обследованием сезоном и указывать в паспорте на рабочий раствор.

Помимо этого, для ингибирования посторонней флоры могут быть использованы теллурид калия в концентрации 1:300000, фосфомицин 50–100 мкг/мл.

В полевых условиях ВОЗ рекомендует использовать дезоксихолатный агар, так как при этом не требуется стерилизация, и чумной микроб может быть выделен даже при комнатной температуре [27]. Чумной микроб вырастает на нем при температуре 37 °С через 48 ч в виде немногочисленных красноватых колоний величиной с булавочную головку.

В более поздних руководствах рекомендуют для выделения чумного микроба использовать агар МакКонки [30]. Присутствие кристаллического фио-

летового в среде подавляет рост грамположительных бактерий, а соли желчных кислот препятствуют росту некоторых грамотрицательных бактерий. Вместе с тем среда позволяет дифференцировать штаммы чумного микроба по признаку ферментации лактозы.

Центр контроля за заболеваемостью (CDC) предлагает в качестве альтернативной среды применять eosin methylene blue (EMB) agar [37].

В качестве селективной среды для *Y. pestis* широко разрекламирован CIN агар (Cefsulodin-irgasannovobiosin agar) [41], разработанный первоначально для выделения *Yersinia enterocolitica* [44]. Среда, обладая сильными ингибирующими свойствами в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, не подавляет рост грибов. Но главное, значительно угнетает рост *Y. pestis*. Только 5 % бактерий было обнаружено через 36 ч инкубации при температуре 28 °С, а размер выросших колоний варьировал в широком диапазоне [43].

Недавние исследования израильских ученых привели к созданию новой улучшенной селективной среды для выделения *Y. pestis*, названной BIN агар [26]. Формула BIN агара основана на brain heart infusion (BHI) агаре, который придает среде высокие ростовые свойства. Ингибирующие свойства обеспечиваются присутствием целого набора реагентов: солей желчных кислот (холата натрия (0,5 г/л) и дезоксихолата натрия (0,5 г/л)), иргазана (0,0008 г/л), кристаллического фиолетового (0,001 г/л) и нистатина (0,025 г/л). Поэтому на среде отсутствует рост золотистого стафилококка, многих видов бацилл, сальмонелл, шигел, кишечной палочки и грибов. Показано, что BIN агар более эффективен в поддержании роста чумного микроба из чистых культур и выделении его в модельных экспериментах, чем среда МакКонки и CIN агар.

Совсем свежая разработка американских изобретателей посвящена созданию хромогенной среды для идентификации *Y. pestis* [24]. В качестве азотистой основы заявлены, наверное, все коммерческие белковые гидролизаты, начиная от триптона, бактопептона и заканчивая соевым гидролизатом, и даже сульфат аммония. Ингибирующее действие в отношении бактерий и грибов обеспечивает комплекс ингредиентов: соли желчных кислот, иргазан, ванкомицин и циклогексимид.

Помимо селективных, среда обладает дифференциальными свойствами. Для этого в состав среды предлагается вводить один или смесь углеводов: сахарозу, инозит, дульцит, лактозу, адонит, рамнозу и целлобиозу, которые не ферментируются чумным микробом. Среда также содержит индикатор pH для индикации изменения pH среды и хромогенный субстрат 5-бром-4-хлор-3-индоксил-β-D-глюкопиранозид и 3-индоксил-β-D-глюкопиранозид или изопропил-β-D-тиоглюкопиранозид и 3-О-метил-β-D-глюкопиранозид, которые реагируют с β-глюкозидазой *Y. pestis* с образованием осадка, окрашивающего колонии в синий цвет. Микробы, ферментирующие хотя

бы один из перечисленных сахаров и не обладающие β-глюкозидазой, формируют на среде колонии желтого цвета. Колонии микроорганизмов, положительных в отношении сахаров и β-глюкозидазы, окрашиваются в зеленый цвет. Авторы изобретения гарантируют появление чумного микроба и его простую дифференциацию от родственных микробов через 48 ч инкубации при температуре 28–30 °С. Штаммы *Y. enterocolitica* формирует колонии желтого цвета, а штаммы *Y. pseudotuberculosis* растут в виде колоний, окрашенных от зеленого до желто-зеленого цвета.

Дифференциальные среды. Для дифференциации чумного микроба было предложено много питательных сред: голодный агар Безсоновой; среда с рамнозой, агар для обнаружения пестицида, магниево-оксалатный агар, среда с конго-красным, среда для определения фибринолитической активности и др. Подробное их описание можно найти в монографии Н.И.Николаева и др. публикациях [14, 22, 49].

Здесь хотелось бы остановиться на коммерческой иерсиниозной среде производства ФГУН ГНЦ ПМБ (Оболенск), выпускаемой в виде сухого порошка (Регистрационный номер ФСР 2007/00900 от 11.10.2007 г.). Среда первоначально разработана для дифференциации культур *Y. enterocolitica* и *Y. pseudotuberculosis* по признаку утилизации мочевины. Вместе с тем она позволяет дифференцировать их от чумного микроба. Посев штаммов *Y. pestis* приводит к появлению типичных (с темным центром и ажурной периферией) колоний, окрашенных в желтый цвет. При этом колонии *Y. enterocolitica* выглядят синими влажными гладкими, а *Y. pseudotuberculosis* – сухими с фестончатым краем зелено-синего цвета.

С целью дифференциации чумного микроба фирма Becton Dickinson предлагает использовать агар Кристенсена с мочевиной, который входит в состав диагностической системы для *Y. pestis*. Фирма Becton Dickinson выпускает также и другие среды, необходимые для диагностики чумы. Это триптиказо-соевый и питательный бульоны и агары, CIN агар.

Резюмируя вышесказанное, можно заключить, поскольку чумной микроб не требует уникальных сред для роста, то в арсенале исследователя для работы с чумным микробом должны быть хотя бы обогащенные бульон и агар, а также селективная и дифференциальная среды. В нашей стране к настоящему времени нет ни одной сертифицированной среды, ни для культивирования, ни для выделения, ни для дифференциации чумного микроба, зарегистрированной в надлежащем порядке.

В конце прошлого века Иркутский ПЧИ выпускал среду для культивирования чумного микроба по ФС 42-3609-98. Питательная среда для культивирования чумного микроба (ЧПС), разработанная во ФГУН ГНЦ ПМБ, успешно прошла Государственные испытания еще в 2000 г.

Таким образом, в современной бактериологической лаборатории биохимические и микробиологические методы и тесты понемногу вытесняются

молекулярно-биологическими, иммунохимическими и другими ускоренными методами [25]. Диагноз заболевания может быть поставлен при использовании высокотехнологичных тест-систем, основанных на выявлении антигенов с определенными антителами в прямых тестах флюоресценции, или обнаружении определенных последовательностей ДНК и др. Однако выделение возбудителя остается «золотым стандартом» в диагностике любого инфекционного заболевания. Чума не является исключением. Для выделения возбудителя нужны стандартные питательные среды. Стандартность сред может быть достигнута при их промышленном изготовлении на предприятиях, где действует система контроля на каждой стадии технологического процесса, где внедрен процесс валидации и сертификации.

Работа выполнена по Государственному контракту № 128-Д от 11.06.2009 г. в рамках Федеральной целевой программы «Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации (2009–2013 годы)».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.

1. Апарин Г.П. О влиянии малахитовой зелени на рост возбудителя чумы и некоторых других микробов. Изв. Иркут. ГосНИПЧИ Сибири и Дальн. Вост. 1958; 18:3–7.
2. Артюхин В.И., Шепелин А.П., Киселева Н.В. Белковые гидролизаты в производстве питательных сред: Производство и применение продуктов микробиологических производств: Обзорная информация. М.: ВНИИСЭНТИ; 1990. 9–10. 52 с.
3. Арыкпаева У.Т., Класовский Л.Н., Степанов В.М., Сучков Ю.Г. Минимальная синтетическая среда для культивирования бактерий чумы при температуре 37 °С. Пробл. особо опасных инф. 1978; 1:22–6.
4. Бахрах Е.Э., Обухова З.А., Маслова О.П. Усовершенствование технологии приготовления питательных сред для выращивания чумного микроба. Тр. ин-та «Микроб». 1960; 4:501–7.
5. Домарадский И.В. Чума. М.: Медицина; 1998.
6. Домарадский И. В., Голубинский Е. П., Лебедева С. А., Сучков Ю. Г. Биохимия и генетика возбудителя чумы. М.: Медицина, 1974. 165 с.
7. Домарадский И.В. Общая характеристика обмена веществ чумного микроба. Изв. Иркут. ГосНИПЧИ Сибири и Дальн. Вост. 1958; 18:155–71.
8. Желтенков А.И., Анохин С.В. Влияние фильтрата сарцины на некоторые свойства чумного микроба. Тр. ин-та «Микроб». 1958; 2:341.
9. Иванов В.А. Культивирование чумного микроба на жидких и твердых синтетических средах. Тр. Ин-та «Микроб». 1959. С. 98–106.
10. Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллеза. Методические указания. МУ 3.3.2.2124-06. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2007. 35 с.
11. Мартенс Л.А. Получение питательных сред и кислотных гидролизатов рыбокопной муки. В кн.: Специфическая профилактика особо опасных инф. М.; 1964. С. 246–56.
12. Муравьева Н.К., Крайнова А.Н., Маслова О.П. Применение казеиновых сред в вакцинном производстве. В кн.: Особо опасные и природноочаговые инфекции. М.: Медиздат; 1962. С. 207–11.
13. Наумов А. В., Самойлова Л. В., редакторы. Руководство по профилактике чумы. Саратов; 1992. 275 с.
14. Николаев Н. И. Чума. М.: Медицина; 1968. 238 с.
15. Организация и проведение эпидемиологического надзора в природных очагах чумы на территории Российской Федерации. МУ 3.1.1098-02. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2002.
16. Орел Л.Л., Класовский Л.Н., Терентьева Л.И., Стогова А.Г., Чмиров О.Б., Доброцветова Т.Я. Влияние молибденовокислого аммония на рост возбудителя чумы и холеры. В кн.: Микробиология, иммунология и биохимия особо опасных инф.

Саратов; 1987. С. 85–91.

17. Попов А.А. Сравнение эффективности стимулирующего действия гемолизированной крови и стимулятора из сарцины при посеве шт. EV НИИ ЭГ. В кн.: Совершенствование методов диагностики и профилактики чумы и холеры. Саратов; 1987. С. 34–40.
18. Розанова Р.Н., Лазарева И.Р., Елкин Ю.М., Свешникова Л.П. Потребности в факторах роста чумного микроба из Закавказского нагорья. Пробл. особо опасных инф. 1976; 49:8–11.
19. Трифонова А.А. Роль составных частей крови человека и различных видов животных в питании чумного микроба. В кн.: Вопросы микробиологии и лабораторной диагностики особо опасных инф. Саратов; 1965. С. 117–8.
20. Трифонова А.А. Сравнительное изучение некоторых стимуляторов роста чумного микроба. Тр. ин-та «Микроб». Саратов; 1960. 4:162–4.
21. Фидиппов А.Ф., Кондрашкова Т.В., Муравьева Н.К., Павлова Л.П., Огарев Н.А. Свойства культур чумного микроба, выращенных на средах из аутолизатов рыбы. Пробл. особо опасных инф. 1974; 3(37):62–7.
22. Шеремет О.В., Голубинский Е.П., Винидниченко Н.Н. Питательная среда для дифференциации возбудителя чумы и псевдотуберкулеза. Пробл. особо опасных инф. 1978; 4(62):65–66.
23. Шеремет О.В., Милютин В.Н., Корганов Я.Н., Копылов В.А. Вирулентность, жизнеспособность и чувствительность к антибиотикам возбудителя чумы при выращивании на некоторых питательных средах при 28 и 37 °С. Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол. 1986; 5:53–6.
24. Abrott T. J. Plating media for the identification of *Yersinia pestis*. US Patent 000402 (A1). Patent Application 20070004021. 2007.
25. Anisimov A.P., Lindler L.E., Pier G.B. Intraspecific diversity of *Yersinia pestis*. Clin. Microbiol. Rev. 2004; 7:434–64.
26. Ber R., Mamroud E., Aftalion M., Tidhar A., Gur D., Flashner Y., Cohen S. Development of an improved selective agar medium for isolation of *Yersinia pestis*. Appl. Environ. Microbiol. 2003; 69:5787–92.
27. Berencsi G., Khan A.S., Halouška J. Emerging biological threat. IOS Press; 2003. P. 181.
28. Brownlow W.J., Wessman G.E. Nutrition of *Pasteurella pestis* in chemically defined media at temperatures of 36 to 38 °C. J. Bacteriol. 1960; 79:299–304.
29. Chu M.C. Basic Laboratory Protocols for the Presumptive Identification of *Yersinia pestis*. CDC. 4/18/01.
30. Dennis D.T., Gage K.L., Gratz N., Poland J.D., Tikhomriov E. Plague manual: epidemiology, distribution, surveillance and control. Geneva: WHO; 1999.
31. Drennan J.G., Teague O. A selective medium for the isolation of *B. pestis* from contaminated plague lesions and observations on the growth of *B. pestis* on autoclaved nutrient agar. J. Med. Res. 1917; 36:519–32.
32. Englesberg E., Levy J.B. Studies of immunization against plague. VI. Growth of *Pasteurella pestis* and the production of the envelope and other soluble antigens in a casein hydrolyzate mineral glucose medium. J. Bacteriol. 1956; 67:438–49.
33. Higuchi K., Carlin C.E. Studies on the nutrition and physiology of *Pasterella pestis*. I. A casein hydrolyzate medium for the growth of *Pasterella pestis*. J. Bacteriol. 1957; 73:122–9.
34. Kischner L. Gals als voedingsbodem bij de diagnose der pest septicaemiae. Geneesh. Tijdschr. 3. Ned. Indie. 1934; 74:1149–59.
35. Knisely R.F., Swaney L.M., Friedlander H. Selective media for the isolation of *Pasterella pestis*. J. Bacteriol. 1964; 88:491–6.
36. LaRose G. L'oxione della bile sul Bacillo della peste. Giorn. Batteriol. Immunol. 1930; 5:1768–80.
37. Level A Laboratory Procedures for Identification of *Yersinia pestis*. Available from: http://www.bt.cdc.gov/Agent/Plague/ype_la_cp_121301.pdf.
38. Markenson, J., and S. Ben-Efraim. Oxgall medium for identification of *Pasteurella pestis*. J. Bacteriol. 1963; 85:1443–5.
39. Morris, E. J. Selective media for some *Pasteurella* species. J. Gen. Microbiol. 1958; 19:305–11.
40. Murray P.R., editor in chief. Manual of Clinical Microbiology. 7th ed. Washington, D.C.: ASM Press; 1999. 1773 p.
41. Rasoamanana, B., L. Rahalison, C. Raharimanana, and S. Chanteau. Comparison of *Yersinia* CIN agar and mouse inoculation assay for the diagnosis of plague. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 1996; 90:651.
42. Rockenmacher M., James H., Elberg S.S. Studies of the nutrition and physiology of *Pasteurella pestis*. I. A chemically defined culture medium for *Pasteurella pestis*. J. Bacteriol. 1952; 63:785–94.
43. Russell P., Nelson M., Whittington D., Green M., Eley S.M., Tithall R.W. Laboratory diagnosis of plague. Br. J. Bio. Sci. 1997; 54:231–6.
44. Schiemann, D. A. Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*. Can. J. Microbiol. 1979; 25:1298–304.
45. Sentinel Laboratory Guidelines for suspected agents of bioterrorism. *Yersinia pestis*. American Society for Microbiology;

2005. 19 p.

46. *Smith L.D. and Phillips R.L.* Growth of *Pasterella pestis* on a casein digest medium. *J. Franklin Inst.* 1943; 235:536–45.

47. *Sokhey S.S., Habbu M.K.* Optimum and limiting hydrogen ion concentrations for the growth of the plague bacillus in broth. *J. Bacterial.* 1943; 46:33–7.

48. *Sokhey S.S., Harbu M.K., Bharucha K.F.* Hydrolisate of casein for preparation of plague and cholera vaccines. *Bull. WHO.* 1950; 3:25–31.

49. *Surgalla M.J., Befsley E.D., Albizo J.M.* Practical Applications of new laboratory methods for plaque investigations. *Bull. WHO.* 1970; 42:993–1000.

Об авторах:

Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Храмов М.В., Дятлов И.А. Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии. 142279, Московская обл., Серпуховский р-он, п. Оболенск. E-mail: domotenko@obolensk.org

L.V.Domotenko, Ya.V.Podkopaev, M.V.Khramov, I.A.Dyatlov

Nutrient Media for Plague Diagnostics

State Scientific Center of Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow region

National and foreign literature was analyzed. Considered were nutrient media for plague agent growth, isolation and differentiation. Present state of nutrient media production was highlighted.

Key words: plague agent, nutrient media.

Authors:

Domotenko L.V., Podkopaev Ya.V., Khramov M.V., Dyatlov I.A. State Research Center of Applied Microbiology and Biotechnology. Obolensk. E-mail: domotenko@obolensk.org

Поступила 14.09.09.