

# Способность *Vibrio cholerae* O1 El Tor формировать биопленку в эксперименте на биологических субстратах в микрокосмах

Е.А.Меньшикова, С.В.Титова, С.О.Водопьянов, Н.А.Селянская, Л.А.Егиазарян,  
И.П.Олейников, В.Д.Кругликов

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Резервуаром возбудителя холеры в межэпидемические периоды на территории эндемичных по этой инфекции стран могут быть поверхностные водоемы. Вместе с тем нетоксигенные штаммы холерных вибрионов различных серогрупп могут переживать и сохраняться в водных объектах как автохтонные представители водной микрофлоры на эндемичных территориях. Одной из форм, обеспечивающих сохранение штаммов холерных вибрионов, являются биопленки. В данной публикации приведены данные о способности холерных вирионов образовывать биопленку на биотических субстратах в микрокосмах (хитин речного рака и фитопланктон – микроводоросли *Dioscorea communis*) на основе расчета показателя биопленкообразования (ПБ).

При оценке биопленкообразования в микрокосмах самый высокий ПБ ( $1,8 \pm 0,3$ ) на хитиновом субстрате наблюдался у токсигенного штамма, выделенного из воды. У штамма, выделенного от больного, в тех же условиях на микроводорослях самое высокое значение ПБ составило  $1,7 \pm 0,7$ . У нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor показатель ПБ колебался от  $0,6 \pm 0,20$  до  $0,9 \pm 0,40$  в зависимости от температуры. Приведенные данные свидетельствуют о способности холерных вирионов образовывать биопленку не только на хитиновом субстрате, но и на микроводорослях (фитопланктоне).

**Ключевые слова:** *Vibrio cholerae*, хитин речного рака, микроводоросли, микрокосмы, биопленка, показатель биопленкообразования

**Для цитирования:** Меньшикова Е.А., Титова С.В., Водопьянов С.О., Селянская Н.А., Егиазарян Л.А., Олейников И.П., Кругликов В.Д. Способность *Vibrio cholerae* O1 El Tor формировать биопленку в эксперименте на биологических субстратах в микрокосмах. Бактериология. 2026; 11(1): 8–12. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-8-12

## The ability of *Vibrio cholerae* O1 El Tor to form a biofilm in an experiment on biological substrates in microcosmas

E.A.Menshikova, S.V.Titova, S.O.Vodopyanov, N.A.Selyanskaya, L.A.Egiazaryan, I.P.Oleynikov, V.D.Kruglikov

Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation

Surface water bodies may serve as reservoirs of the cholera pathogen during interepidemic periods in countries endemic for this infection. At the same time, in non-endemic areas, non-toxigenic strains of cholera vibrios of various serogroups may survive and persist in water bodies as autochthonous representatives of aquatic microflora. One form that ensures the preservation of cholera vibrio strains is biofilms.

The article presents data on the ability of cholera virions to form a biofilm on biotic substrates in microcosms (crayfish chitin and phytoplankton – *Dioscorea communis* microalgae) based on the calculation of the biofilm formation index (BFI).

When assessing the biofilm formation of toxigenic strains of cholera vibrios in microcosms, we found that the highest BFI ( $1.8 \pm 0.3$ ) was observed on a chitinous substrate for the toxigenic strain isolated from water. The strain isolated from the patient had the highest indicator of  $1.5 \pm 0.40$  under the same conditions on microalgae. For non-toxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor, BFI varied from  $0.6 \pm 0.20$  to  $0.9 \pm 0.40$  depending on the temperature. The presented data indicate that *V. cholerae* can form biofilms not only on a chitinous substrate, but also on microalgae (phytoplankton).

**Key words:** *Vibrio cholerae*, microcosms, crayfish chitin, microalgae, biofilm, biofilm formation indicator

**For citation:** Menshikova E.A., Titova S.V., Vodopyanov S.O., Selyanskaya N.A., Egiazaryan L.A., Oleynikov I.P., Kruglikov V.D. The ability of *Vibrio cholerae* O1 El Tor to form a biofilm in an experiment on biological substrates in microcosmas. Bacteriology. 2026; 11(1): 8–12. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-8-12

### Для корреспонденции:

Меньшикова Елена Аркадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40  
E-mail: menshikova\_ea@antiplague.ru  
ORCID: 0000-0002-6003-4283

Статья поступила 01.11.2025, принята к печати 30.03.2026

### For correspondence:

Elena A. Menshikova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор

Address: 117/40 M.Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation  
E-mail: menshikova\_ea@antiplague.ru  
ORCID: 0000-0002-6003-4283

The article was received 01.11.2025, accepted for publication 30.03.2026

**Р**езервуаром возбудителя холеры в межэпидемические периоды на территории эндемичных по этой инфекции стран могут быть поверхностные водоемы. Вместе с тем на неэндемичных территориях нетоксигенные штаммы холерных вибрионов различных серогрупп могут переживать и сохраняться в водных объектах как автохтонные представители водной микрофлоры. Попадая в окружающую среду, бактерии *Vibrio cholerae* встречаются с естественными обитателями водной среды, взаимоотношения с которыми представляют интерес с точки зрения их роли в персистенции холерных вибрионов [1–3]. Еще в 1983 г. Hug et al. показали, что между сезонными колебаниями численности холерных вибрионов и ракообразных (хитин) существует корреляционная связь. Хитин членистоногих обеспечивает питание и размножение вибрионов, обладающих ферментом хитиназой, а муциназа, продуцируемая бактериями, увеличивает их адгезивные свойства [4]. В свою очередь, массовое развитие и цветение фитопланктона и водорослей в начале теплых сезонов играет важную роль в развитии водного сообщества, поскольку обеспечивает дополнительные питательные вещества для последующего развития зоопланктона и гидробионтов, что приводит к активному размножению холерных вибрионов. Рядом авторов зоо- и фитопланктон рассматриваются как важные факторы в распространении холеры как внутри континентов, так и между ними [5–7]. Кроме того, особую роль в сохранении и эволюции холерных вибрионов в водных экосистемах играет их способность формировать биопленку, которая обеспечивает дополнительную защиту от хищных протистов, доступ к питательным веществам и повышенную стрессоустойчивость при изменении экологических условий [1, 8, 9]. Однако в настоящее время в литературе нет данных о формировании холерными вибрионами биопленки в микрокосмах.

**Целью** работы явилась экспериментальная оценка способности холерных вибрионов формировать биопленку на поверхности хитинового панциря речного рака и микроводорослях *Dioscorea communis* в микрокосмах по показателю биопленкообразования методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР-РВ).

## Материалы и методы

В работе использовали штаммы *V. cholerae* O1 El Tor *ctxA+tcpA+* №№ 19613 (Инаба), выделенный из воды, 19667 (Огава), выделенный от человека, и *V. cholerae* O1 El Tor

*ctxA-tcpA-* №№ 20000 (Огава), 19670 (Инаба), выделенные из воды, полученные из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону. Штаммы водорослей IPAS S-313 *D. communis*, являющихся обычными обитателями поверхностных водоемов средних широт, получены из коллекции микроводорослей ИФР РАН (IPPAS), ФГБУН «Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева» РАН. В качестве биотических субстратов в среде культивирования использовали хитин речного рака (0,5 × 0,5 см) и микроводоросли *D. communis*. Биопленки холерных вибрионов получали запатентованными и описанными ранее способами [10, 11].

Экспериментальные микрокосмы (модели, состоящие из водорослей, хитина и холерных вибрионов) содержали холерные вибрионы в концентрации 10<sup>4</sup> КОЕ/мл, одноклеточные зеленые водоросли в концентрации 10<sup>4</sup> кл./мл и фрагменты хитинового панциря речного рака. Пробы последовательно культивировали в условиях, моделирующих сезонные изменения температуры воды поверхностных водоемов (весна-осень, лето, зима). Наблюдение проводили в течение 28 суток при температуре 25 ± 1 °С и дневном освещении (1000 люкс) (лето). Затем, со второго месяца, эти же пробы помещали на 28 суток при температуре 15 ± 1 °С и освещенности день-ночь (весна-осень). С третьего месяца пробы культивировали 28 суток при температуре 6 ± 1 °С без освещения (зимний период). Концентрацию холерных вибрионов в фитопланктоне и хитиновом панцире речного рака количественно оценивали методом ПЦР-РВ на 7, 14 и 28-е сутки [10, 11]. Количество клеток водорослей оценивали микроскопически [12]. Жизнеспособность холерных вибрионов подтверждали бактериологическим методом по наличию характерного роста на агаре Мартена pH 7,6 (производства ФБУНГЦ ПМБ, г. Оболенск).

Поскольку зеленые микроводоросли *D. communis* были распределены по всему объему речной воды (фитопланктон) над хитиновым субстратом в микрокосмах, то способность холерных вибрионов формировать биопленку (показатель биопленкообразования (ПБ)) на хитиновом панцире речного рака рассчитывали как отношение количества микробных клеток (м.к.) на фрагменте хитинового панциря к количеству м.к. в фитопланктоне, которое определяли с помощью метода ПЦР-РВ [11].

ПБ холерных вибрионов в фитопланктоне рассчитывали как отношение количества микробных клеток (м.к.) на

Таблица 1. Показатель биопленкообразования (ПБ) *V. cholerae* O1 El Tor на хитиновом панцире речного рака в микрокосмах  
 Table 1. Biofilm formation rate of *V. cholerae* O1 El Tor on the chitinous shell of crayfish in complex microcosms

| №№ штаммов<br><i>V. cholerae</i> O1 El Tor<br>и наличие генов<br><i>ctxA</i> , <i>tcpA</i> /<br>Strains number<br><i>V. cholerae</i> O1 El Tor<br>and the presence of<br>the <i>ctxA</i> , <i>tcpA</i> gene | Объект<br>выделения /<br>Selection object | Период наблюдения, сутки / Incubation period, days     |             |             |            |            |            |            |             |             |
|---|---|--|-------------|-------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|
|   |   | 7  | 14          | 28          | 7          | 14         | 28         | 7          | 14          | 28          |
|   |   | Температура инкубации, °С / Incubation temperature, °С |             |             |            |            |            |            |             |             |
|   |   | ПБ (BFI)   |             |             |            |            |            |            |             |             |
| <i>ctxA+tcpA+</i> 19613   | Вода / Water                              | 1,2 ± 0,2  | 1,5 ± 0,2   | 1,5 ± 0,3   | 1,8 ± 0,3  | 1,6 ± 0,2  | 1,6 ± 0,4  | 1,1 ± 0,1  | 1,6 ± 0,6   | 1,6 ± 0,6   |
| <i>ctxA+tcpA+</i> 19667   | Человек / Human                           | 1,1 ± 0,1  | 1,4 ± 0,4   | 1,4 ± 0,3   | 1,7 ± 0,7  | 1,7 ± 0,1  | 1,1 ± 0,1  | 1,1 ± 0,30 | 1,4 ± 0,3   | 1,2 ± 0,5   |
| <i>ctxAtcpA-</i> 20000  | Вода / Water                              | 1,2 ± 0,30   | 1,3 ± 0,40  | 1,3 ± 0,20  | 1,5 ± 0,40 | 1,5 ± 0,10 | 1,4 ± 0,60 | 1,7 ± 0,30 | 1,4 ± 0,30  | 1,20 ± 0,20 |
| <i>ctxAtcpA-</i> 19670  | Вода / Water                              | 1,3 ± 0,10   | 1,20 ± 0,20 | 1,10 ± 0,30 | 1,5 ± 0,40 | 1,5 ± 0,20 | 1,2 ± 0,30 | 1,2 ± 0,10 | 1,00 ± 0,30 | 1,1 ± 0,20  |

микроводорослях *D. communis* к количеству м.к. в биопленке на фрагменте хитина, которое рассчитывали с использованием метода ПЦР-РВ.

Микропрепараты для визуализации биопленок в световом микроскопе готовили, отпечатывая фрагменты хитинового панциря и водоросли на предметном стекле, после чего высушивали и фиксировали в 96°-м спирте в течение 20 мин. Препараты окрашивали Конго красным и фуксином («Интерхим», Россия). Исследуемые образцы изучали в световом микроскопе Zeiss Axiostar plus (Carl Zeiss, Германия) при увеличении 6 × 100. Все эксперименты проводили в трехкратной повторности. Статистический анализ выполняли с использованием программы Medstatistica.ru. Полученные данные объединяли в вариационные ряды, на основании которых проводили расчет средних арифметических величин (*M*). В качестве ошибки среднего представляли стандартное отклонение ( $\sigma$ ). Статистическую значимость различий экспериментальных данных оценивали с помощью критерия Стьюдента, при уровне значимости  $p \leq 0,05$  достоверность считали значимой.

Все эксперименты проводили с соблюдением требований биологической безопасности [13].

## Результаты

Оценивая ПБ токсигенного штамма *V. cholerae* O1 El Tor 19613, выделенного из воды, на хитиновом субстрате за 28 суток (один период наблюдения), установили, что самый высокий показатель составил  $1,8 \pm 0,3$  при температуре культивирования  $15 \pm 1^\circ\text{C}$ , самый низкий –  $1,1 \pm 0,1$  при  $6 \pm 1^\circ\text{C}$ . У токсигенного штамма *V. cholerae* O1 El Tor 19677, выделенного от больного, в тех же условиях самый высокий ПБ оказался равен  $1,7 \pm 0,3$ , самый низкий –  $1,1 \pm 0,1$ . У нетоксигенного штамма *V. cholerae* O1 El Tor 20000 ПБ колебался от  $1,2 \pm 0,20$  (при  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  и  $6 \pm 1^\circ\text{C}$ ) до  $1,5 \pm 0,40$  ( $15 \pm 1^\circ\text{C}$ ). У *V. cholerae* O1 El Tor 19670 ПБ варьировал от  $0,1 \pm 0,20$  ( $6 \pm 1^\circ\text{C}$ ) до  $1,5 \pm 0,40$  ( $6 \pm 1^\circ\text{C}$ ) (табл. 1).

ПБ токсигенных штаммов на микроводорослях при тех же температурных условиях составил: у штамма *V. cholerae* O1 El Tor 19613 – от  $0,6 \pm 0,10$  ( $15 \pm 1^\circ\text{C}$ ) до  $0,9 \pm 0,20$  ( $6 \pm 1^\circ\text{C}$ ), у штамма *V. cholerae* O1 El Tor 19677 – от  $0,6$  ( $15 \pm 1^\circ\text{C}$ ) до  $1,0$  ( $6 \pm 1^\circ\text{C}$ ). ПБ нетоксигенных штаммов практически не отличался и составлял от  $0,6 \pm 0,10$  до  $0,9 \pm 0,40$  при температуре культивирования  $15 \pm 1^\circ\text{C}$  и  $6 \pm 1^\circ\text{C}$  соответственно (табл. 2).

Концентрация зеленой водоросли *D. communis* составила  $10^7$  кл/мл, придавая насыщенный зеленый оттенок всему объему воды, и оставалась на этом уровне весь период наблюдения.

Следует отметить, что ПБ токсигенного штамма *V. cholerae* O1 El Tor 19613, выделенного из воды поверхностных водоемов, на хитиновом панцире речного рака был выше, чем у токсигенного штамма *V. cholerae* O1 El Tor 19667, изолированного от человека, и нетоксигенных штаммов, в то время как при формировании биопленки на микроводорослях ПБ токсигенного штамма (*V. cholerae* O1 El Tor 19667), выделенного от человека, в тех же условиях культивирования был выше, чем у токсигенного штамма, изолированного из воды (*V. cholerae* O1 El Tor 19613), и нетоксигенных штаммов водного происхождения.

При сравнении значения ПБ исследуемых штаммов на хитиновом субстрате при температурах, моделирующих сезонные изменения в поверхностных водоемах, прослеживается однотипная тенденция. Значения показателей БП при  $15 \pm 1^\circ\text{C}$  были немного выше, чем при  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , однако различия оставались незначительными и были статистически незначимыми ( $p \leq 0,05$ ). Снижение температуры до  $6 \pm 1^\circ\text{C}$  не сопровождалось снижением концентрации холерных вибрионов.

Статистическая оценка результатов ПБ *V. cholerae* O1 El Tor на микроводорослях в микрокосмах при тех же температурных режимах показала, что изменения ПБ при различных температурных режимах статистически не значимы ( $p \leq 0,05$ ). В течение всего периода наблюдения ПБ исследуемых штаммов незначительно изменялся (уменьшался или увеличивался), однако оставался на достаточно высоком уровне даже в условиях, моделирующих зимнюю температуру в воде открытых водоемов. В 1990-х гг. Голубев с соавт. (1995), изучая влияние зеленых водорослей на планктонную форму *V. cholerae*, установили, что микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* (*D. communis*) в зависимости от температуры по-разному воздействовали на вибрионы – при температуре  $24\text{--}25^\circ\text{C}$  оказывали лишь бактериостатическое действие, а при  $4\text{--}16^\circ\text{C}$  стимулировали рост холерных вибрионов [14].

При визуализации мазков-отпечатков у исследуемых штаммов холерных вибрионов на микропрепаратах отмечали скопление клеток вокруг микроводоросли *D. communis*, которое было окружено аморфным веществом (экзополисахаридом), окрашенным в розовый цвет (рисунок).

Таблица 2. Показатель биопленкообразования *V. cholerae* O1 El Tor на микроводорослях в микрокосмах  
 Table 2. Biofilm formation rate of *V. cholerae* O1 El Tor on microalgae in complex microcosms

| №№ штаммов<br><i>V. cholerae</i> O1 El Tor<br>и наличие генов<br><i>ctxA</i> , <i>tcpA</i> /<br>Strains number<br><i>V. cholerae</i> O1 El Tor<br>and the presence of<br>the <i>ctxA</i> , <i>tcpA</i> gene | Объект<br>выделения /<br>Selection object | Период наблюдения, сутки / Incubation period, days     |                |                |                |                |                |                |                |                |
|---|---|--|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
|   |   | 7  | 14             | 28             | 7              | 14             | 28             | 7              | 14             | 28             |
|   |   | Температура инкубации, °C / Incubation temperature, °C |                |                |                |                |                |                |                |                |
|   |   | ПБ(РВ)   | ПБ             | ПБ             | ПБ             | ПБ             | ПБ             | ПБ             | ПБ             | ПБ             |
| <i>ctxA</i> + <i>tcpA</i> + 19613   | Вода / Water                              | $0,8 \pm 0,50$   | $0,7 \pm 0,30$ | $0,7 \pm 0,30$ | $0,6 \pm 0,10$ | $0,6 \pm 0,30$ | $0,9 \pm 0,20$ | $0,9 \pm 0,40$ | $0,7 \pm 0,30$ | $0,9 \pm 0,20$ |
| <i>ctxA</i> + <i>tcpA</i> + 19667   | Человек / Human                           | $0,9 \pm 0,40$   | $0,7 \pm 0,50$ | $0,7 \pm 0,30$ | $0,6 \pm 0,40$ | $0,6 \pm 0,10$ | $0,9 \pm 0,20$ | $1,0 \pm 0,10$ | $0,7 \pm 0,40$ | $0,9 \pm 0,10$ |
| <i>ctxA</i> <i>tcpA</i> - 20000   | Вода / Water                              | $0,8 \pm 0,30$   | $0,8 \pm 0,40$ | $0,8 \pm 0,60$ | $0,6 \pm 0,40$ | $0,7 \pm 0,30$ | $0,9 \pm 0,10$ | $0,9 \pm 0,40$ | $0,7 \pm 0,30$ | $0,8 \pm 0,20$ |
| <i>ctxA</i> <i>tcpA</i> - 19670   | Вода / Water                              | $0,7 \pm 0,30$   | $0,8 \pm 0,20$ | $0,9 \pm 0,10$ | $0,7 \pm 0,30$ | $0,6 \pm 0,40$ | $0,8 \pm 0,20$ | $0,8 \pm 0,30$ | $0,9 \pm 0,20$ | $0,9 \pm 0,10$ |

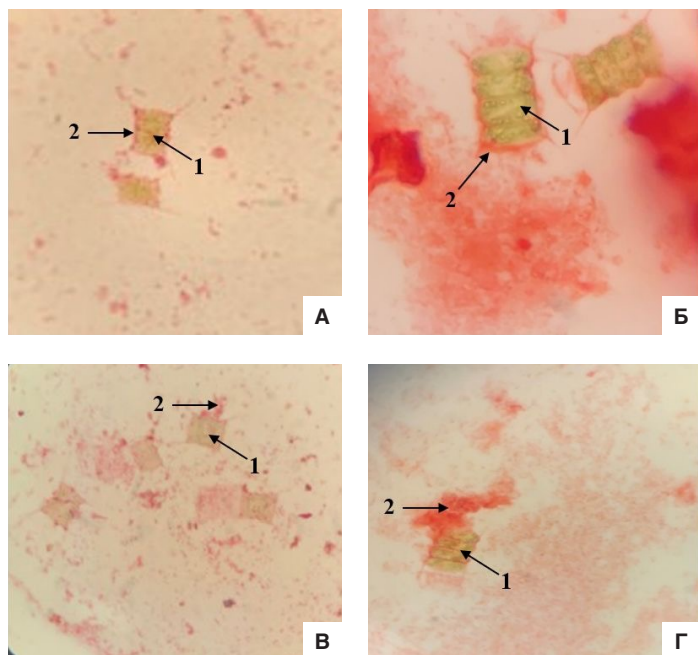


Рисунок. Биопленки холерных вибрионов, сформированные на микроводорослях (фитопланктоне) при +6°C в течение 28 суток: А – биопленка *V. cholerae* O1 El Tor 19667, сформированная на *D. communis*; Б – биопленка *V. cholerae* O1 El Tor 19613, сформированная на *D. communis* и отпечаток биопленки на хитиновом панцире речного рака; В – биопленка *V. cholerae* O1 El Tor 20000, сформированная на *D. communis*; Г – биопленка *V. cholerae* O1 El Tor 19670, сформированная на *D. communis*. 1 – микроводоросль *D. communis*, 2 – биопленка. Увеличение 6 × 100.

Figure. Biofilm of cholera vibrios formed on microalgae (phytoplankton) under +6°C, for 28 days: А – biofilm of *V. cholerae* O1 El Tor 19667, formed on *D. communis*; Б – biofilm of *V. cholerae* O1 El Tor 19613, formed on *D. communis* and biofilm imprint on the chitinous shell of a crayfish; В – biofilm *V. cholerae* O1 El Tor 20000, formed on *D. communis*; Г – biofilm of *V. cholerae* O1 El Tor 19670, formed on *D. communis*. 1 – microalgae *D. communis*, 2 – biofilm. Magnification 6 × 100.

### Обсуждение

Таким образом, представленные результаты свидетельствуют о возможности использования методических приемов, предлагаемых в работе, для оценки способности холерных вибрионов формировать биопленку на биотических субстратах в микрокосмах. Следует отметить, что все исследуемые штаммы холерных вибрионов были способны формировать биопленку как на хитиновом субстрате, так и на микроводорослях в микрокосмах. Способность штаммов холерных вибрионов колонизировать поверхность биотических субстратов (хитин и фитопланктон) может привести к накоплению возбудителя в поверхностных водоемах. В случае завоза токсигенных культур и их попадания в водоемы данный феномен, вероятно может способствовать развитию эпидемического осложнения. Полученные результаты могут быть использованы для дополнительной оценки патогенетического и персистентного потенциала *V. cholerae*.

### Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

### Financial support

No financial support has been provided for this work.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

### Вклад авторов

Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией.

### Author contribution

All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

### Литература

1. Islam MS, Zaman MH, Islam MS, Ahmed N, Clemens JD. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae*. *Vaccine*. 2020 Feb 29;38 Suppl 1:A52-A62. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.06.033
2. Mavian C, Paisie TK, Alam MT, Browne C, Beau De Rochars VM, Nembrini S, et al. Toxigenic *Vibrio cholerae* evolution and establishment of reservoirs in aquatic ecosystems. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Apr 7;117(14):7897-7904. DOI: 10.1073/pnas.1918763117
3. Islam MT, Alam M, Boucher Y. Emergence, ecology and dispersal of the pandemic generating *Vibrio cholerae* lineage. *Int Microbiol*. 2017 Sep;20(3):106-115. DOI: 10.2436/20.1501.01.291
4. Huq A, Small EB, West PA, Huq MI, Rahman R, Colwell RR. Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Appl Environ Microbiol*. 1983 Jan;45(1):275-83. DOI: 10.1128/aem.45.1.275-283.1983
5. Bhowmick R, Ghosal A, Chatterjee NS. Effect of environmental factors on expression and activity of chitinase genes of vibrios with special reference to *Vibrio cholerae*. *J Appl Microbiol*. 2007 Jul;103(1):97-108. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.03253.x
6. Андрусенко ИТ, Ломов ЮМ, Телесманич НР, Акулова МВ, Москвитина ЭА. Гидробионтный фактор в эпидемиологии холеры. *ЗНИСО*. 2009;3:11-19.
7. Пушкарева ВИ. Гидробионты и растения – альтернативные хозяева возбудителей сапронозов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020;19(3):69-77. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-69-77
8. Куликалова ЕС, Урбанович ЛЯ, Марков ЕЮ, Вишняков ВС, Миронова ЛВ, Балахонov СВ, и др. Связь холерного вибриона с водными организмами и ее значение в эпидемиологии холеры. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014;4(77):19-25.
9. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004;(2):95-108. DOI: 10.1038/nrmicro821
10. Меньшикова ЕА, Курбатова ЕМ, Водопьянов СО, Писанов РВ, Титова СВ. Оценка способности холерных вибрионов формировать биопленку на поверхности хитинового панциря речного рака. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2021;98(4):434-439. DOI: 10.36233/0372-9311-99
11. Патент РФ на изобретение №2685878/ 30.01.2018. Водопьянов СО, Водопьянов АС, Меньшикова ЕА, и др. Способ моделирования биопленок, формируемых *Vibrio cholerae* O1 серогруппы на поверхности хитина. Режим доступа: [https://yandex.ru/patents/doc/RU2685878C1\\_20190423](https://yandex.ru/patents/doc/RU2685878C1_20190423)
12. Titova SV. Experimental cultivation of *Vibrio cholerae* with green algae. *Journal of Microbiology, Epidemiology, Immunobiology*. 2000;2:19-22.
13. Глава IV, СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».

14. Голубев ВП, Мединский ГМ, Ломов ЮМ, Шестиалтынова ИС, Власов ВП, Монахова ЕВ, и др. Влияние биотических экологических факторов поверхностных водоемов на интенсивность выделения и свойства вибрионов Эль Тор. Матер. Рос. научн. практ. конференции по пробл. «Холера» (25–26 апреля 1995 г.). Ростов-на-Дону. 1995;69-76.

## References

1. Islam MS, Zaman MH, Islam MS, Ahmed N, Clemens JD. Environmental reservoirs of *Vibrio cholerae*. *Vaccine*. 2020 Feb 29;38 Suppl 1:A52-A62. DOI: 10.1016/j.vaccine.2019.06.033
2. Mavian C, Paisie TK, Alam MT, Browne C, Beau De Rochars VM, Nembrini S, et al. Toxigenic *Vibrio cholerae* evolution and establishment of reservoirs in aquatic ecosystems. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2020 Apr 7;117(14):7897-7904. DOI: 10.1073/pnas.1918763117
3. Islam MT, Alam M, Boucher Y. Emergence, ecology and dispersal of the pandemic generating *Vibrio cholerae* lineage. *Int Microbiol*. 2017 Sep;20(3):106-115. DOI: 10.2436/20.1501.01.291
4. Huq A, Small EB, West PA, Huq MI, Rahman R, Colwell RR. Ecological relationships between *Vibrio cholerae* and planktonic crustacean copepods. *Appl Environ Microbiol*. 1983 Jan;45(1):275-83. DOI: 10.1128/aem.45.1.275-283.1983
5. Bhowmick R, Ghosal A, Chatterjee NS. Effect of environmental factors on expression and activity of chitinase genes of vibrios with special reference to *Vibrio cholerae*. *J Appl Microbiol*. 2007 Jul;103(1):97-108. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2006.03253.x
6. Andrusenko IT, Lomov YuM, Telesmanich NR, Akulova MV, Moskvitina EA. Hydrobiont factor in cholera epidemiology. *ZNISO*. 2009;3:11-19. (In Russian).
7. Pushkareva VI. Hydrobionts and plants – alternative hosts of saprotoxic pathogens. *Epidemiology and Vaccine Prevention*. 2020;19(3):69-77. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-3-69-77 (In Russian).
8. Kulikalova ES, Urbanovich LYa, Markov EYu, Vishnyakov VS, Mironova LV, Balakhonov SV, et al. The relationship of *Vibrio cholerae* with aquatic organisms and its significance in cholera epidemiology. *Epidemiology and Vaccine Prevention*. 2014;4(77):19-21. (In Russian).
9. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004;(2):95-108. DOI: 10.1038/nrmicro821
10. Menshikova EA, Kurbatova EM, Vodopyanov SO, Pisanov RV, Titova SV. Evaluation of the ability of *Vibrio cholerae* to form a biofilm on the surface of the chitinous shell of crayfish. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(4):434-439. DOI: 10.36233/0372-9311-99 (In Russian).
11. Russian Federation Patent for Invention No 2685878/ 30.01.2018. Vodopyanov SO, Vodopyanov AS, Menshikova EA, et al. Method for Modeling Biofilms Formed by *Vibrio cholerae* Serogroup O1 on a Chitin Surface. Available at: [https://yandex.ru/patents/doc/RU2685878C1\\_20190423](https://yandex.ru/patents/doc/RU2685878C1_20190423) (In Russian).
12. Titova SV. Experimental cultivation of *Vibrio cholerae* with green algae. *Journal of Microbiology, Epidemiology, and Immunobiology*. 2000;2:19-22. (In Russian).
13. Chapter IV, SanPiN 3.3686-21 "Sanitary and Epidemiological Requirements for the Prevention of Infectious Diseases". (In Russian).

14. Golubev VP, Medinsky GM, Lomov YuM, Shestialtynova IS, Vlasov VP, Monakhova EV, et al. The influence of biotic ecological factors of surface water bodies on the isolation rate and properties of El Tor vibrios. *Proceedings of the Russian Scientific Practical Conference on the Problem of "Cholera" (April 25-26, 1995)*. Rostov-on-Don, 1995;69-76. (In Russian).

## Информация о соавторах:

Титова Светлана Викторовна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора  
ORCID: 0000-0002-7831-841X

Водопьянов Сергей Олегович, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других ОКИ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора  
ORCID: 0000-0003-4336-0439

Селянская Надежда Александровна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других ОКИ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора  
ORCID: 0000-0002-0008-4705

Егиазарян Лиана Альбертовна, младший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других ОКИ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора  
ORCID: 0000-0001-6350-065X

Олейников Игорь Павлович, научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других ОКИ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора  
ORCID: 0000-0002-2390-9773

Кругликов Владимир Дмитриевич, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других ОКИ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора  
ORCID: 0000-0002-6540-2778

## Information about co-authors:

Svetlana V. Titova, PhD, MD, Leading Researcher at the Department of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор  
ORCID: 0000-0002-7831-841X

Sergey O. Vodopyanov, MD, PhD, DSc, Chief Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор  
ORCID: 0000-0003-4336-0439

Nadezhda A. Selyanskaya, MD, PhD, Senior Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор  
ORCID: 0000-0002-0008-4705

Liana A. Egiazaryan, Junior Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор  
ORCID: 0000-0001-6350-065X

Igor P. Oleynikov, Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор  
ORCID: 0000-0002-2390-9773

Vladimir D. Kruglikov, MD, PhD, DSc, Chief Researcher of the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор  
ORCID: 0000-0002-6540-2778