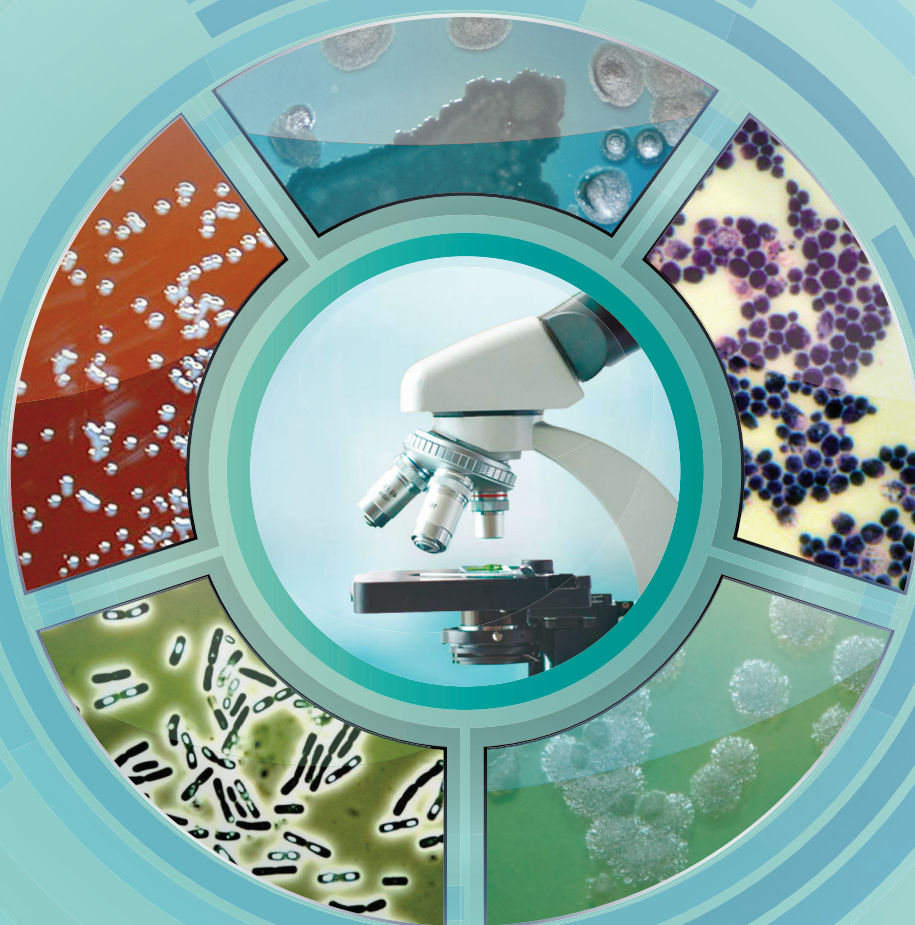


БАКТЕРИОЛОГИЯ

Bacteriology



2026 • ТОМ 11 • №1

ISSN 2500-1027

БАКТЕРИОЛОГИЯ

Научно - практический журнал

Главный редактор

И.А.Дятлов, академик РАН, д.м.н., профессор
(Россия)

Ответственный секретарь

И.Г.Говорунов, к.б.н.
(Россия)

Редакционный совет

А.П.Анисимов, д.м.н., проф. (Россия)
С.В.Балахонов, д.м.н., проф. (Россия)
А.Н.Куличенко, академик РАН, д.м.н., проф. (Россия)
В.В.Кутырев, академик РАН, д.м.н., проф. (Россия)
Н.В.Рудаков, д.м.н., проф. (Россия)
Сун Чжичжоу, к.б.н. (Китай)

Редколлегия

З.Адъясурэн, д.м.н., проф. (Монголия)	И.Х.Маматкулов, д.м.н., проф. (Республика Узбекистан)
И.А.Базиков, д.м.н., проф. (Россия)	С.Г.Марданлы, д.м.н. (Россия)
М.И.Буаро, д.м.н., проф. (Гвинейская Республика)	Т.В.Мека-Меченко, д.м.н. (Казахстан)
В.А.Горбунов, к.м.н. (Белоруссия)	В.Л.Мотин, к.б.н., проф. (США)
Ш.Гурбанов, к.м.н. (Азербайджанская Республика)	В.В.Помазанов, д.т.н., проф. (Россия)
С.В.Дентовская, д.м.н. (Россия)	Т.В.Припутневич, член-корр. РАН, д.м.н. (Россия)
Л.В.Домотенко, к.х.н. (Россия)	А.В.Ракин, к.м.н. (Германия)
Г.А.Каримова, к.б.н. (Франция)	Э.А.Светоч, д.в.н., проф. (Россия)
А.В.Карлышев, к.б.н., проф. (Великобритания)	О.Е.Хохлова, д.б.н., доцент (Россия)
Л.В.Коломбет, д.б.н. (Россия)	В.Н.Царев, д.м.н., проф. (Россия)
М.Н.Косой, к.б.н. (США)	Л.Н.Черноусова, д.б.н., проф. (Россия)
	К.Ю.Шаталин, к.б.н. (США)

Учредитель

© Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека

Журнал входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК,
в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук, РИНЦ

Адрес учредителя и редакции:

142279, Московская область,
г.о. Серпухов, р.п. Оболенск,
Территория «Квартал А», д. 24,
ФБУН ГНЦ ПМБ

Телефон: +7-4967-360003
+7-4967-360046
Факс: +7-4967-360010

E-mail: bacteriology@obolensk.org
info@obolensk.org

Издатель

© «Издательство «Династия»



www.phdynasty.ru

117149, Москва, ул. Азовская, д. 6, корп. 3

Подписано в печать 30.03.2026

Отпечатано: Мастерская печати Old School,
603105, Нижний Новгород, ул. Чачиной, 39а, оф. 5

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных
технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор)
Регистрационный номер
П/И №ФС 77-66792 от 15.08.2016 г.

Журнал «Бактериология»
является рецензируемым изданием.

Выходит четыре раза в год.
Основан в 2016 году.

Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных материалов.

Тираж 1440 экз. Цена свободная.

Отдел рекламы:
Телефон: +7 495 660-6004
E-mail: reklama@phdynasty.ru

Подписной индекс по объединенному
каталогу «Пресса России»: 39920

Колонка главного редактора

Новые методологии в разработке средств ускоренного выявления возбудителя сибирской язвы **5**

Экспериментальные статьи

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 **8**

Анализ динамики выделения и особенностей биологических свойств штаммов *Vibrio cholerae*, изолированных в ходе мониторинга водных объектов окружающей среды г. Ростова-на-Дону в 2024 г.
Л.А.Егиазарян, Е.А.Меньшикова, М.И.Ежова, О.А.Подойницына, В.С.Казьмина, В.Д.Кругликов, Н.Е.Гаевская, Е.Д.Теплякова **13**

Выявление генетических детерминант устойчивости к тяжелым металлам в геномах *Vibrio cholerae*
А.В.Евтеев, С.О.Водопьянов, А.С.Водопьянов, Р.В.Писанов **19**

Оценка влияния комплексного дисбиоза на исход экстракорпорального оплодотворения на модели лабораторных животных
З.Р.Хасаншина, Н.В.Богачёва **26**

Геоинформационная система *Pseudomonas aeruginosa*
А.А.Ковалевич, А.С.Водопьянов, Е.Д.Василенко, Р.В.Писанов **34**

Изучение биологических свойств маточных культур холерных бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 в жидкой и лиофилизированной форме
М.П.Погожова, Е.А.Глазкова, К.С.Гумаюнова, А.В.Комиссаров, М.В.Овчинникова, Н.Е.Гаевская, А.В.Тюрина, Ю.В.Сизова, И.А.Иванова **42**

Применение современных методов исследования для уточнения видовой аутентичности штаммов бактерий рода *Salmonella* из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
Е.Ю.Агафонова, И.А.Касьян, Е.А.Нарышкина, Н.А.Шарапова, А.В.Фёдоров, Н.Е.Щербакова, А.В.Осин **54**

Сравнение и оптимизация методов оценки антагонистической активности штаммов пробиотиков нового поколения
О.А.Игнатьева, М.А.Волков, М.Н.Панькова, З.Е.Федец, А.В.Загайнова, Д.Ю.Побережный, В.В.Даниэль, В.В.Макаров, В.В.Муравьёва, А.Б.Гордеев, Т.В.Припутневич, В.С.Юдин, А.А.Кескинов, Д.А.Каштанова, С.М.Юдин **61**

К вопросу об изучении противогрибковой активности наноструктурированного церия
В.Н.Царёв, Э.А.Базилян, М.С.Подпорин, А.М.Саркисян, Е.Р.Садчикова, В.К.Иванов **72**

Использование фрагментного секвенирования для видовой идентификации патогенных лептоспир в нативном материале
С.Е.Будаева, Н.В.Бренёва, А.В.Ляпунов, С.В.Балахонов **79**

Генотипирование штаммов возбудителя псевдотуберкулеза, выделенных на территории Российской Федерации, с помощью SNP-маркеров
М.Г.Мелоян, А.С.Водопьянов, Е.А.Воскресенская, А.Л.Трухачёв **85**

Молекулярно-генетическая характеристика *Listeria monocytogenes* сиквенс-типа ST9 как наиболее часто ассоциированного с контаминацией пищевых продуктов
Е.А.Алексеева, В.Н.Борзенков, И.П.Мицевич, Т.Н.Мухина, М.Р.Барькова, Г.Н.Федюкина, А.И.Козлов, М.В.Храмов, О.А.Кузнецова, Ю.К.Юшина, М.А.Грудистова, Н.К.Фурсова **92**

Обзоры

Минимизация биориска при обращении с инфицированными лабораторными животными
Е.В.Кислицина, В.Г.Германчук, М.В.Гордеева **103**

Микробиологический спектр осложненного варианта течения послеоперационного периода при гинекологических операциях
М.Л.Смертина, Н.В.Богачёва **112**

Юбилей

К 75-летию доктора биологических наук Коломбет Любови Васильевны **120**

Правила оформления статей (основные положения) **122**

BACTERIOLOGY

Scientific and Practical Journal

Editor-in-Chief

I.A.Dyatlov, academician of RAS, Sc.D., prof.
(Russia)

Executive Secretary

I.G.Govorunov, PhD
(Russia)

Editorial Council

A.P.Anisimov, Sc.D., prof. (Russia)
S.V.Balakhonov, Sc.D., prof. (Russia)
A.N.Kulichenko, academician of RAS, Sc.D., prof. (Russia)
V.V.Kutyrev, academician of RAS, Sc.D., prof. (Russia)
N.V.Rudakov, Sc.D., prof. (Russia)
Sun Chzhichzhou, PhD (China)

Editorial Board

Z.Adyaasyren, Sc.D., prof. (Mongolia)	O.E.Khokhlova Sc.D, Assoc. Prof. (Russia)
I.A.Bazikov, Sc.D., prof. (Russia)	M.N.Kosoi, PhD (USA)
M.Y.Boiro, ScD., prof. (Republic of Guinea)	I.Kh.Mamatkulov, Sc.D., prof. (Uzbekistan)
L.N.Chernousova, Sc.D., prof. (Russia)	S.G.Mardanly, Sc.D. (Russia)
S.V.Dentovskaya, Sc.D. (Russia)	T.V.Meka-Mechenko, Sc.D. (Kazakhstan)
L.V.Domotenko, PhD (Russia)	V.L.Motin, PhD, prof. (USA)
V.A.Gorbunov, PhD (Belarus)	V.V.Pomazanov, Sc.D., prof. (Russia)
Sh.Gurbanov, PhD (Republic of Azerbaijan)	T.V.Priputnevich, corr.member of RAS, ScD (Russia)
G.A.Karimova, PhD (France)	A.V.Rakin, PhD (Germany)
A.V.Karlyshev, PhD, prof. (Great Britain)	K.Yu.Shatalin, PhD (USA)
L.V.Kolombet, Sc.D. (Russia)	E.A.Svetoch, Sc.D., prof. (Russia)
	V.N.Tsarev, Sc.D., prof. (Russia)

Founder and Publisher

© State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Abstracting journal is indexed in the Russian Science Citation Index

Editorial Office:

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Obolensk, Moscow region, 142279
Phone: +7-4967-360003, +7-4967-360046
Fax: +7-4967-360010
E-mail: bacteriology@obolensk.org
info@obolensk.org

Publisher

© «Dynasty» Publishing House



www.phdynasty.ru

Advertising Department:

Phone: +7 495 660 6004; e-mail: reklama@phdynasty.ru

Editor-in-Chief's Introduction

New methodologies in the development of means for accelerated detection of the anthrax pathogen **5**

Experimental Articles

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.Egjazaryan, I.P.Oleynikov, V.D.Kruglikov **8**

Analysis of the isolation dynamics and biological properties of *Vibrio cholerae* strains isolated during monitoring of environmental water objects in Rostov-on-Don in 2024
L.A.Egjazaryan, E.A.Menshikova, M.I.Ezhova, O.A.Podoinitsyna, V.S.Kazmina, V.D.Kruglikov, N.E.Gaevskaya, E.D.Teplyakova **13**

Identification of genetic determinants of heavy metal resistance in *Vibrio cholerae* genomes
A.V.Evteev, S.O.Vodopyanov, A.S.Vodopyanov, R.V.Pisanov **19**

Evaluation of the effect of complex dysbiosis on the outcome of *in vitro* fertilization in laboratory animal models
Z.R.Khasanshina, N.V.Bogacheva **26**

Pseudomonas aeruginosa geographic information system
A.A.Kovalevich, A.S.Vodopyanov, E.D.Vasilenko, R.V.Pisanov **34**

Study of biological properties of uterine cultures of cholera bacteriophages Rostov-13 and Rostov-M3 in liquid and lyophilized form
M.P.Pogozhova, E.A.Glazkova, K.S.Gumayunova, A.V.Komissarov, M.V.Ovchinnikova, N.E.Gaevskaya, A.V.Tyurina, Yu.V.Sizova, I.A.Ivanova **42**

Application of modern research methods to clarify the species authenticity of collection strains of bacteria of the genus *Salmonella*
E.Yu.Agafonova, I.A.Kasyan, E.A.Naryshkina, N.A.Sharapova, A.V.Fedorov, N.E.Shcherbakova, A.V.Osin **54**

Comparison and optimization of methods for the assessment of antagonistic activity of next-generation probiotic strains
O.A.Ignatyeva, M.A.Volkov, M.N.Pankova, Z.E.Fedets, A.V.Zagainova, D.Yu.Poberezhniy, V.V.Daniel, V.V.Makarov, V.V.Muravieva, A.B.Gordeev, T.V.Priputnevich, V.S.Yudin, A.A.Keskinov, D.A.Kashtanova, S.M.Yudin **61**

On the study of fungi-active nanostructured metals
V.N.Tsarev, E.A.Bazikyan, M.S.Podporin, A.M.Sarkisyan, E.R.Sadchikova, V.K.Ivanov **72**

Use of fragment sequencing for species identification of pathogenic leptospires in native material
S.E.Budaeva, N.V.Breneva, A.V.Lyapunov, S.V.Balakhonov **79**

Genotyping of pseudotuberculosis strains isolated in the Russian Federation using SNP markers
M.G.Meloyan, A.S.Vodopyanov, E.A.Voskresenskaya, A.L.Trukhachev **85**

Molecular genetic characterization of *Listeria monocytogenes* sequence type ST9 as the most frequently associated with food contamination
E.A.Alekseeva, V.N.Borzenkov, I.P.Mitsevich, T.N.Mukhina, M.R.Barkova, G.N.Fedyukina, A.I.Kozlov, M.V.Khramov, O.A.Kuznetsova, Yu.K.Yushina, M.A.Grudistova, N.K.Fursova **92**

Reviews

Minimizing biorisk when handling infected laboratory animals
E.V.Kisilitsina, V.G.Germanchuk, M.V.Gordeeva **103**

Microbiological spectrum of complicated postoperative period in gynecological surgery
M.L.Smertina, N.V.Bogacheva **112**

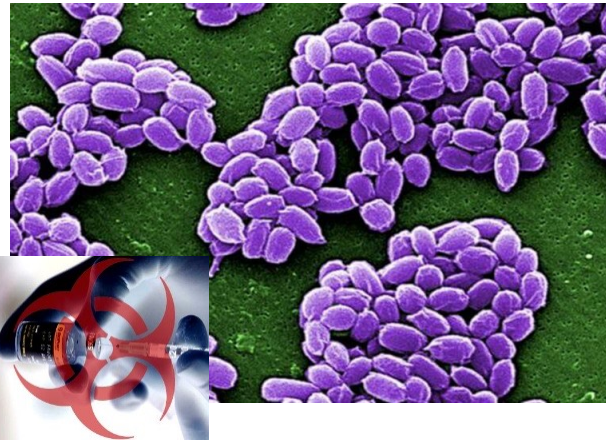
Jubilee

On the 75th anniversary of Doctor of Biological Sciences Lyubov Vasilievna Kolombet **120**

Instructions for Authors **122**

Новые методологии в разработке средств ускоренного выявления возбудителя сибирской язвы

Диагностика сибиреязвенной инфекции в плане детекции спор и вегетативных клеток возбудителя сибирской язвы достаточно хорошо разработана. Наряду с культуральными методами выделения патогена и его микробиологической идентификации уже созданы и зарегистрированы (ФБУН ГНЦ ПМБ) ускоренные методы выявления возбудителя, его спор с помощью иммунохроматографического (ИХ) анализа и иммуно-ПЦР для выявления протективного антигена и летального фактора возбудителя сибирской язвы, а также новый высокоспецифичный бактериофаг Оболенск-R1 (запатентован и зарегистрирован). Однако эти методы имеют некоторые недостатки.



ИХ-тесты специфично выявляют возбудитель и дифференцируют его от других бацилл при исследовании колоний, выросших на чашках после их ресуспендирования и нанесения на тест. Чувствительность метода – 10^5 – 10^6 клеток/мл, что делает его мало приемлемым для определения во внешней среде (скотомогильники) или в сибиреязвенных карбункулах и крови зараженного. В настоящее время мы развиваем этот метод с целью повышения чувствительности с помощью флуоресцентной метки, что позволяет выявлять клетки в концентрации до 10^3 (сравнимо с ПЦР). Для широкого внедрения данного метода необходимы отечественные недорогие флуоресцентные ридеры, которые находятся в стадии разработки.

Метод иммуно-ПЦР для выявления протективного антигена и летального фактора (наиболее значимого фактора вирулентности) высокочувствителен, однако не находит массового спроса из-за сложностей в постановке самой реакции (множество операций), а также дорогостоящ в производстве и имеет небольшой срок хранения. Автоматизация метода с помощью специальных приборов может решить эту задачу, что уже сделано в зарубежных странах.

Что касается использования бактериофага для диагностики, то для быстрого получения результата такой подход неприемлем. Им пользуются только для специальных целей. Например, мы применяли фаг для выявления патогена в сложных смесях с содержанием малого количества клеток возбудителя в реакции нарастания титра фага. Однако это направление могло бы развиваться при современных подходах с использованием наночастиц и автоматической регистрации взаимодействия фаг–клетка.

Нами разработан и зарегистрирован ПЦР-набор для определения в окружающей среде ДНК одновременно возбудителей чумы, туляремии и сибирской язвы («MULTI-FLU сухой вариант»), который пользуется большим спросом. Мультиплексные ПЦР наиболее перспективны в отношении развития биодетекции. В 2015 г. нами создана изотермическая LAMP-ПЦР для выявления возбудителя *Bacillus anthracis* во внешней среде. Метод LAMP хорошо зарекомендовал себя для массовых анализов как менее трудоемкий по сравнению с ПЦР, но для дискретных исследований, например выявления особо опасных инфекций, он малоприменим. Перспективно его использование при совмещении с CRISPR-Cas-детекцией.

Нами разработана технология выявления сибиреязвенного микроба на основе CRISPR-Cas-системы, отличающаяся сверхвысокой специфичностью. Основная задача этой технологии в настоящее время – повышение чувствительности с применением LAMP, PSR, RPA. Для целей биодетекции в мире обычно используют платформу SHERLOCK, которая выявляет РНК-мишень в образцах

с помощью комплексов gRNA-Cas13, или DETECTR, которая выявляет ДНК-мишень с помощью комплексов gRNA-Cas12a. Для выявления конечного продукта используется флюоресценция или иммунохроматография. Нами разработана гидовая РНК для сибиреязвенного микроба, а также создан продуцент универсального фермента Cas12a, который может производиться в больших количествах. Это наиболее перспективное направление в диагностике, которое развивается в мире ускоренными темпами. Однако высокая специфичность метода может дать отрицательный результат, связанный даже с незначительными изменениями в целевых генах, хотя эта проблема решается с разработкой мультиплексных вариантов метода.

Следует отметить несколько новых направлений в биодетекции сибиреязвенного микроба, которые могут войти в практику лабораторий.

В частности, проведена работа, аналогичная нашей, с применением другой нуклеазы. В данном исследовании разработана высокочувствительная технология экспресс-диагностики *B. anthracis*, когда метод множественной ферментативной изотермической быстрой амплификации (MIRA, сходна с нашим LAMP) был интегрирован с системой обнаружения регулярно расположенных коротких палиндромных повторов CRISPR-ассоциированного белка 13a (CRISPR/Cas13a). После тестирования выбора crRNA, праймеров MIRA, температуры реакции и условий обнаружения CRISPR система обнаружения CRISPR/Cas13a с использованием двух crRNA достигла предела обнаружения 1000 копий/мл для *B. anthracis*. Дополнительно был проведен количественный анализ. По сравнению с другими распространенными патогенами, анализ продемонстрировал высокую специфичность. В клинически смоделированных образцах все 20 положительных образцов были правильно идентифицированы, а все 13 отрицательных были однозначно классифицированы как отрицательные. На основе этих результатов разработана технология экспресс-диагностики. Благодаря разработке портативного устройства для экспресс-тестирования с использованием технологии CRISPR в сочетании с проверенной системой лиофилизированных реагентов устройство достигло предела обнаружения 250 копий/мл и выдавало результаты в течение 30 мин. Все образцы были точно классифицированы на положительные и отрицательные. Таким образом, данное исследование представляет собой высокочувствительную и портативную технологию для экспресс-диагностики *B. anthracis*. Она также может иметь значение для экспресс-диагностики других инфекционных заболеваний. Эта работа свидетельствует о том, что направление биодетекции, связанное с использованием CRISPR/Cas-технологии, интенсивно развивается и для обнаружения особо опасных инфекций, в т.ч. с использованием и других нуклеаз, в частности Cas13a (doi.org/10.1111/1751-7915.70240).

Еще две работы касаются разработки современных биосенсоров, т.е. направления, которое для развития индикаторных процедур представляется особенно важным в сфере обеспечения биологической безопасности.

Описан электрохимический иммуносенсор для выявления *B. anthracis*, отличающийся несложной методологией биодетекции с использованием золотого электрода, функционализированного самоорганизующимся монослоем на основе тиола и золотых наночастиц в качестве носителей антител, что повышает чувствительность за счет увеличения площади поверхности для связывания антигена. Инновационным является интеграция регенерируемой золотой поверхности, простого электрохимического метода считывания на основе циклической вольтамперометрии и потенциала миниатюризации до портативных форматов, что обеспечивает быструю диагностику на месте. В отличие от некоторых существующих биосенсоров, которые основаны на аптамерах или ферментативном усилении сигнала, эта система основана на прямом взаимодействии антигена и антитела с минимальной сложностью реагентов. Платформа предлагает многообещающую альтернативу для раннего обнаружения спор сибирской язвы в окружающей среде или в чрезвычайных ситуациях, особенно там, где быстрое принятие решений имеет решающее значение.

Основным достижением данного исследования является разработка методологии модификации электрохимических преобразователей, позволяющей селективно и чувствительно обнаруживать споры *B. anthracis* даже в присутствии других бактерий, включая близкородственные виды *Bacillus*. Полученные биосенсоры на основе модифицированных золотых электродов продемонстрировали высокую чувствительность и специфичность к целевому антигену и при использовании в лабораторной системе циклической вольтамперометрии позволили обнаруживать споры *B. anthracis* в концентрациях всего 10^3 клеток на мл. Процесс измерения выполняется за один этап без сложной пробоподготовки, требуя лишь микролитрового объема образца. Кроме того, использование одноразовых электродов исключает риск перекрестного загрязнения и необходимость дезинфекции после измерения.

Электрохимические биосенсоры – это относительно новый тип сенсоров, используемых для обнаружения биомолекул, таких как ДНК или белки. Электрохимическое детектирование осущест-

вляется с использованием трехэлектродной системы: рабочего электрода, на котором происходит реакция переноса электронов, электрода сравнения, поддерживающего стабильный потенциал относительно рабочего электрода, и вспомогательного электрода, который, помимо прочих функций, снижает сопротивление раствора.

В данной работе использовано моноклональное антитело к антигену спор *B. anthracis* SA26 и 6 типов моноклональных антител против спор *B. anthracis* (клоны антител класса IgG2a: B57G, G46D, SA27, 3G302 и 5E218). В ГНЦ ПМБ также наработана большая панель моноклонов против данного микроба, на чем и построена зарегистрированная ИХ-тест-система для выявления спор. Для определения специфичности работы сенсора в данной работе был использован большой набор близкородственных бацилл в виде суспензии спор: *B. mycoides*, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis*, *B. thuringiensis*, *B. cereus* (3 штамма), *B. subtilis*, *B. anthracis*, и суспензия вегетативных клеток *Escherichia coli*. Полученные результаты весьма репрезентативны, что говорит о перспективности метода, особенно для поиска возбудителя во внешней среде – скотомогильниках, стационарно неблагополучных пунктах, почтовых отправлениях (пример – биотеррористический акт в США в 2001 г.).

По сравнению со стандартными диагностическими методами, такими как ПЦР и иммуноферментный анализ, разработанный биосенсор значительно сокращает время анализа. Данный метод дает результат менее чем за 15 мин, ПЦР – 1,5–3,0 ч, ELISA – 2,0 ч, FET-биосенсор – 30 мин, SPR-биосенсор – 45 мин. И еще одно неоспоримое преимущество перед всеми – миниатюризация оборудования. doi.org/10.3390/s25195948

Хорошо известно, что дипиколиновая кислота является важным компонентом бактериальных эндоспор, обеспечивая их термостойкость, и обнаруживается в высоких концентрациях в эндоспорах видов *Bacillus* и *Clostridium*. В этой связи еще один биосенсорный метод выявления *B. anthracis* основан на быстром и точном обнаружении биомаркера сибирской язвы – 2,6-пиридиндикарбоновой кислоты (DPA). Разработан новый метод обнаружения DPA с использованием двухэмиссионного флуоресцентного сенсора на основе органического висмута (Bi-MOF). Этот сенсор (Eu@Bi-MOF) получен путем функционализации Bi-MOF ионами Eu^{3+} , синтезированного с использованием нитрата висмута в качестве металлического узла и 1,3,5-фенилтрикарбоновой кислоты в качестве лиганда, с помощью метода постсинтетической модификации. Метод показал высокую чувствительность флуоресцентной реакции на DPA. В присутствии DPA интенсивность флуоресценции сенсора Eu@Bi-MOF при 438 нм остается неизменной, в то время как красное флуоресцентное излучение при 615 нм значительно подавляется из-за эффекта внутренней фильтрации. Соотношение интенсивности флуоресценции 438/615 показало хорошую линейную зависимость от концентрации DPA в диапазоне 0,5–60 мкМ, а предел обнаружения составлял всего 0,36 мкМ. Этот метод представляет собой чувствительную и надежную альтернативную стратегию для быстрого мониторинга DPA. Таким образом, датчик Bi-MOF позволяет быстро выявлять биомаркеры сибирской язвы, что также является важным инструментом для скрининговых исследований внешней среды и подозрительных порошков. doi.org/10.1039/D5NJ01946J

Таким образом, развитие методик ускоренного выявления спор и вегетативных клеток возбудителя сибирской язвы ведется в трех основных направлениях – генодиагностика с высокой чувствительностью и специфичностью; иммунодиагностика на основе моноклональных антител к поверхностным антигенам спор и клеток; сенсорные технологии, в т.ч. с применением иммунохимических реакций. Все эти направления в основном связаны с развитием приборной базы для биодетекции, позволяющей многократно увеличивать сигнал от специфической реакции для его визуализации или автоматического регистрирования. Без этого условия будет достаточно сложно повысить чувствительность методов выявления патогена и ускорить получение достоверного результата.

Главный редактор, академик РАН И.А.Дятлов

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 ± 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 ± 0.40 under the same conditions on microalgae. For non-toxigenic strains of *Vibrio cholerae* O1 El Tor, BFI varied from 0.6 ± 0.20 to 0.9 ± 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

Резервуаром 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 10⁴ КОЕ/мл, одноклеточные зеленые водоросли в концентрации 10⁴ 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 <i>V. cholerae</i> O1 El Tor и наличие генов <i>ctxA</i> , <i>tcpA</i> / Strains number <i>V. cholerae</i> O1 El Tor and the presence of the <i>ctxA</i> , <i>tcpA</i> gene	Объект выделения / 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</i> ⁺ <i>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</i> ⁺ <i>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>ctxA</i> ⁻ <i>tcpA</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>ctxA</i> ⁻ <i>tcpA</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 (σ). 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 <i>V. cholerae</i> O1 El Tor и наличие генов <i>ctxA</i> , <i>tcpA</i> / Strains number <i>V. cholerae</i> O1 El Tor and the presence of the <i>ctxA</i> , <i>tcpA</i> gene	Объект выделения / 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	$0,7 \pm 0,30$	$0,8 \pm 0,20$	$0,9 \pm 0,10$	$0,7 \pm 0,30$	$0,6 \pm 0,40$	$0,8 \pm 0,20$	$0,8 \pm 0,30$	$0,9 \pm 0,20$	$0,9 \pm 0,10$

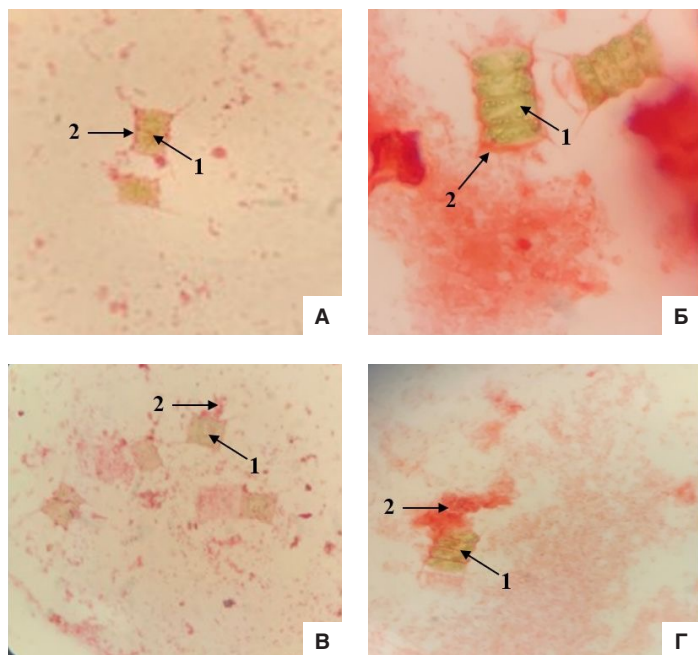


Рисунок. Биопленки холерных вибрионов, сформированные на микроводорослях (фитопланктоне) при +6°C в течение 28 суток: А – биопленка *V. cholerae* O1 El Tor 19667, сформированная на *D. communis*; Б – биопленка *V. cholerae* O1 El Tor 19613, сформированная на *D. communis* и отпечаток биопленки на хитиновом 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: A – 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
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 (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

Анализ динамики выделения и особенностей биологических свойств штаммов *Vibrio cholerae*, изолированных в ходе мониторинга водных объектов окружающей среды г. Ростова-на-Дону в 2024 г.

Л.А.Егиазарян, Е.А.Меньшикова, М.И.Ежова, О.А.Подойницына, В.С.Казьмина,
В.Д.Кругликов, Н.Е.Гаевская, Е.Д.Теплякова

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

При проведении планового мониторинга холеры поверхностных водоемов в 2024 г. в г. Ростове-на-Дону были выделены токсигенные и нетоксигенные вибрионы серогрупп O1 и неO1/неO139.

Цель исследования: анализ динамики выделения и биологических свойств штаммов *Vibrio cholerae*, изолированных в ходе мониторинговых исследований водных объектов окружающей среды г. Ростова-на-Дону на наличие холерных вибрионов в 2024 г. из стационарных точек отбора проб.

Материалы и методы. Отбор проб проводили еженедельно из стационарных точек, закрепленных за ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора. Организацию и проведение исследований осуществляли в соответствии с действующими нормативно-методическими документами. Удельный вес выделенных штаммов холерных вибрионов серогрупп O1 и неO1/неO139 считали от общего числа изолированных штаммов в период мониторинговых исследований поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону.

Результаты и обсуждение. Всего за анализируемый период было исследовано 233 пробы из водных объектов окружающей среды (ООС) г. Ростова-на-Дону. Изолировано и идентифицировано 184 штамма холерных вибрионов, из них 8 штаммов *V. cholerae* O1 (4,4%), два из которых являлись эпидемически значимыми (токсигенными), и 176 штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 (95,6%). На территории г. Ростова-на-Дону из поверхностных водоемов регистрируют единичные случаи выделения токсигенных штаммов холерных вибрионов, вероятно связанные с неустановленными завозами.

Заключение. В 2024 г. продолжалось выделение нетоксигенных и единичных токсигенных штаммов холерных вибрионов O1 из ООС на фоне эпидемического благополучия по холере. Кроме того, по сравнению с 2023 г. отмечалось нарастание с апреля по октябрь числа штаммов холерных вибрионов серогрупп неO1/неO139. Водные ООС могут служить фактором распространения инфекции в случае завоза холеры, что свидетельствует о целесообразности мониторинговых исследований.

Ключевые слова: холера, мониторинг, объекты окружающей среды, штаммы *Vibrio cholerae* серогрупп O1 и неO1/неO139, токсигенный, нетоксигенный

Для цитирования: Егиазарян Л.А., Меньшикова Е.А., Ежова М.И., Подойницына О.А., Казьмина В.С., Кругликов В.Д., Гаевская Н.Е., Теплякова Е.Д. Анализ динамики выделения и особенностей биологических свойств штаммов *Vibrio cholerae*, изолированных в ходе мониторинга водных объектов окружающей среды г. Ростова-на-Дону в 2024 г. Бактериология. 2026; 11(1): 13–18. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-13-18

Analysis of the isolation dynamics and biological properties of *Vibrio cholerae* strains isolated during monitoring of environmental water objects in Rostov-on-Don in 2024

L.A.Egiazaryan, E.A.Menshikova, M.I.Ezhova, O.A.Podoinitsyna, V.S.Kazmina,
V.D.Kruglikov, N.E.Gaevskaya, E.D.Teplyakova

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

Для корреспонденции:

Егиазарян Лиана Альбертовна, младший 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

Телефон: (863) 240-9133

E-mail: egiazaryan_la@antiplague.ru

ORCID: 0000-0001-6350-065X

Статья поступила 29.08.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Liana A. Eghiazaryan, Junior 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

Phone: (863) 240-9133

E-mail: egiazaryan_la@antiplague.ru

ORCID: 0000-0001-6350-065X

The article was received 29.08.2025, accepted for publication 30.03.2026

During the planned monitoring of cholera in surface reservoirs in 2024, toxigenic and non-toxic vibriions of the O1 and neO1/neO139 serogroups were isolated in Rostov-on-Don.

The purpose of the study: to analyze the results of the dynamics of isolation and biological properties of *Vibrio cholerae* strains isolated during monitoring studies of environmental water bodies in Rostov-on-Don for the presence of vibrio cholerae in 2024 from stationary sampling points.

Materials and methods. Sampling was carried out weekly from stationary points assigned to the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor. The organization and conduct of research was carried out in accordance with the current regulatory and methodological documents. The specific gravity of isolated strains of cholera vibriions O1 and neO1/neO139 serogroups was calculated from the total number of isolated strains during monitoring studies of surface reservoirs in Rostov-on-Don.

Results and discussion. In total, 233 samples from water bodies of the environment (environmental protection) were examined during the analyzed period. Rostov-on-Don. 184 strains of vibrio cholerae were isolated and identified, including eight strains of *V. cholerae* O1 (4.3%), two of which were epidemiologically significant (toxigenic) and 176 strains of *V. cholerae* nonO1/nonO139 (95.6%). In the territory of Rostov-on-Don, isolated cases of release of toxigenic strains of cholera vibriions from surface reservoirs are recorded, probably related to unidentified shipments.

Conclusions. In 2024, the isolation of non-toxic and single toxic strains of vibrio cholerae O1 from the environmental protection System continued against the background of epidemic cholera well-being. In addition, there was an annual (compared to 2023) quantitative increase in the number of neO1/neO139 serogroup cholera vibrio strains from April to October. Aquatic environmental management systems can serve as a factor in the spread of infection in the case of cholera importation, which indicates the expediency of monitoring studies.

Key words: cholera, monitoring, environmental objects, *Vibrio cholerae* strains of O1 and nonO1/nonO139 serogroups, toxic, non-toxic

For citation: Egiazaryan L.A., Menshikova E.A., Ezhova M.I., Podoinitsyna O.A., Kazmina V.S., Kruglikov V.D., Gaevsкая N.E., Teplyakova E.D. Analysis of the isolation dynamics and biological properties of *Vibrio cholerae* strains isolated during monitoring of environmental water objects in Rostov-on-Don in 2024. Bacteriology. 2026; 11(1): 13–18. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-13-18

Нетоксигенные штаммы холерных вибрионов серогруппы O1 выделяются из водных объектов на территории Российской Федерации (РФ) практически ежегодно. Это свидетельствует о том, что в воде поверхностных водоемов имеются благоприятные условия для циркуляции холерных вибрионов, а значит, есть возможность реализации риска распространения инфекции водным путем в случае контаминации водных экосистем эпидемически значимым штаммом *Vibrio cholerae* O1. Обнаружение таких штаммов на фоне эпидемического благополучия по холере можно расценивать как неустановленный завод из одной из азиатских стран, где такие штаммы циркулируют [1].

В рамках эпидемиологического надзора за холерой на территории РФ одним из приоритетных направлений является информационный анализ распространения возбудителя в объектах окружающей среды (ООС) на различных территориях страны для оценки эпидемиологической ситуации по данной инфекции, а также выявление внутренних и внешних рисков развития осложнений эпидемиологического характера [2].

Ростов-на-Дону относится к территориям I типа по эпидемическим проявлениям холеры. В подавляющем числе случаев ведущую роль в распространении холеры играет водный фактор передачи [3]. При эпидемиологической оценке условий водоснабжения и водопользования на таких территориях устанавливается высокая или повышенная степень потенциальной опасности водного пути распространения возбудителя холеры. Ежегодно в поверхностных водоемах г. Ростова-на-Дону выделяются холерные вибрионы серогруппы O1, также регистрируются единичные случаи обнаружения токсигенных штаммов. Кроме того, в период мониторинговых исследований на холеру (с апреля по октябрь) выделяются холерные вибрионы серогрупп neO1/neO139, которые являются обитателями водных объектов, способными вызывать у людей спорадические слу-

чай и локальные вспышки острых кишечных инфекций различной степени тяжести и заболевания с внекишечной локализацией [4].

Санитарно-гигиенические условия, выраженные миграционные процессы, наличие зон отдыха, транспортные связи с зарубежными странами способствуют сохранению высокой степени опасности завоза, возникновения вспышек и распространения холеры на территориях РФ, в т.ч. в г. Ростове-на-Дону.

Вышеперечисленные обстоятельства свидетельствуют о необходимости анализа и оценки результатов мониторинга холеры водных экосистем [5].

Цель исследования: анализ динамики выделения и биологических свойств штаммов *V. cholerae*, изолированных в ходе мониторинговых исследований водных объектов окружающей среды г. Ростова-на-Дону на наличие холерных вибрионов в 2024 г. из стационарных точек отбора проб.

Материалы и методы

Исследования проводили на основании действующих нормативных документов [3, 6, 7].

Пробы воды поверхностных водоемов отбирали еженедельно с апреля по октябрь включительно, что было обусловлено неблагоприятной эпидемической ситуацией по холере в мире и, следовательно, повышенными рисками завоза холеры, в т.ч. на территорию Ростовской области. Отбор проб осуществляли в стационарных точках отбора, закрепленных за ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора. За анализируемый период исследования проводились по 6 стационарным точкам (р. Темерник, р. Дон). Кроме того, по эпидпоказаниям проводились исследования проб из дополнительных точек.

Удельный вес штаммов холерных вибрионов и выделенных *V. cholerae* O1 и *V. cholerae* neO1/neO139 рассчитывали

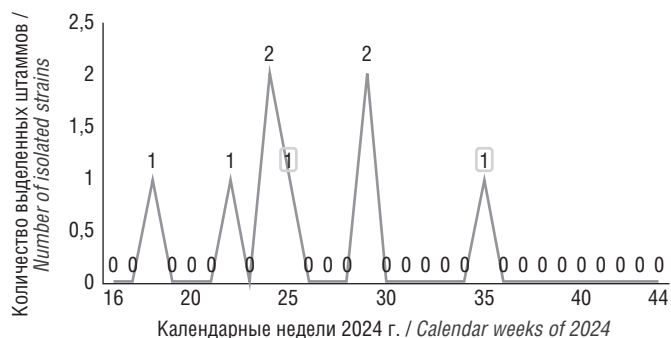


Рис. 1. Динамика выделения токсигенных (обозначены красным) и нетоксигенных (обозначены черным) штаммов *V. cholerae* O1 в г. Ростове-на-Дону по календарным неделям в 2024 г.

Fig. 1. The dynamics of the release of toxigenic (indicated in red) and non-toxic (indicated in black) strains of *V. cholerae* O1 in Rostov-on-Don by calendar weeks in 2024.

от общего числа изолированных штаммов в период мониторинговых исследований поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону.

Выделение и идентификацию холерных вибрионов проводили с использованием бактериологических, серологических и молекулярно-биологических методов исследований. Секвенирование изолированных штаммов проводили на платформе MiSeq (Illumina) [8].

Результаты

Всего за анализируемый период было исследовано 233 пробы из водных ООС г. Ростова-на-Дону. Изолировано и идентифицировано 184 штамма холерных вибрионов. Из них – 8 штаммов *V. cholerae* O1 (4,4%), два из которых являлись эпидемически значимыми (токсигенными). Кроме того, было изолировано 176 (95,6%) штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 (рис. 1).

Большинство штаммов *V. cholerae* O1 выделено из реки Темерник – 7 штаммов *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa: 2 штамма – (*ctxA*⁺*tcpA*⁺); 5 штаммов – (*ctxA*⁻*tcpA*⁺).

Из реки Дон – 1 штамм *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa (*ctxA*⁻*tcpA*⁺).

Первый штамм *V. cholerae* O1 El Tor был выделен 02.05.2024 при температуре воды водоема 14°C, последний – токсигенный штамм *V. cholerae* O1 El Tor – выделен 29.08.2024 при температуре воды 19°C Референс-центром по мониторингу за холерой (ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора).

При мониторинговых исследованиях проб из ООС с апреля по октябрь включительно наибольшее количество штаммов *V. cholerae* O1 было выделено в июне – 3 штамма: 2 нетоксигенных (25,0% от общего количества изолированных штаммов *V. cholerae* O1) и 1 токсигенный (12,5%). По 2 штамма было выделено в мае (25,0%) и в июле (25,0%) соответственно, в августе – 1 (12,5%) токсигенный штамм (рис. 2).

Все изолированные штаммы *V. cholerae* O1 были типичны по родовым и видовым свойствам и принадлежали к биовару Эль Тор, серовару Огава. Холерные вибрионы серогруппы O139 и R-варианта за изучаемый период из исследуемых точек выделены не были.

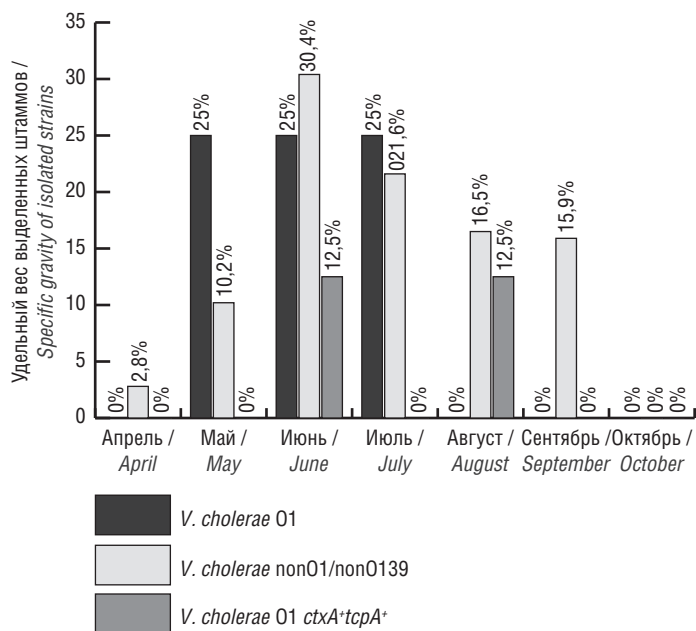


Рис. 2. Сезонность выделения и удельный вес холерных вибрионов серогрупп O1 и неO1/неO139, изолированных из водных объектов в г. Ростове-на-Дону в 2024 г.

Fig. 2. The seasonality of the release and specific gravity of cholera vibrios O1 and nonO1/nonO139 serogroups isolated from water bodies in Rostov-on-Don in 2024.

Токсигенные штаммы холерных вибрионов (2 штамма), выделенные в г. Ростове-на-Дону из реки Темерник (стационарная точка №4 – устье впадения в р. Дон), по данным филогенетического анализа образовали отдельный клональный комплекс с водными изолятами, которые были выделены из этой точки ранее, и имели генотип *ctxB1* (classical) *tcpA* El Tor *rtxA1* (prototype), интактные острова пандемичности VSP-I и VSP-II без делеций. В настоящее время они обладают невысоким эпидемическим потенциалом [9].

В ходе мониторинга поверхностных водоемов на фоне эпидемического благополучия регистрировали единичные случаи выделения токсигенных холерных вибрионов, которые не сопровождалось распространением инфекции. Их происхождение может быть связано как с сохранением в водоемах, так и с новыми завозами.

Что касается водных *ctxA*-штаммов, то анализ показал, что они не являются завозными, эпидемически значимыми. Вместе с тем такие штаммы могут вызывать спорадические случаи заболевания с клиническими проявлениями гастроэнтерита за счет экспрессии генетических детерминант целого ряда факторов патогенности [10–12].

Принадлежность к определенному фаготипу (11-й фаготип) удалось установить у 4 штаммов *V. cholerae* O1 (50,0% от общего числа штаммов O1), выделенных из ООС. Остальные штаммы не типировались.

Анализ фагочувствительности/фагорезистентности свидетельствовал о том, что 8 штаммов *V. cholerae* O1 (100,0%) были чувствительными к фагу Эльтор и резистентными к классическому фагу.

За 2024 г. каких-либо индивидуальных особенностей и тенденции к нарастанию антибиотикорезистентности среди

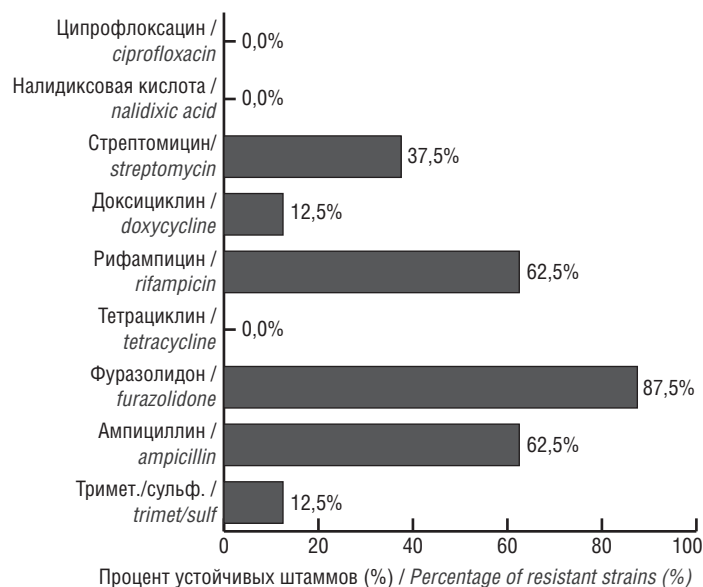


Рис. 3. Антибиотикорезистентность холерных вибрионов серогруппы O1, выделенных из ООС в г. Ростове-на-Дону в 2024 г.
 Fig. 3. Antibiotic resistance of cholera vibrios of serogroup O1 isolated from the hazardous waste disposal facility in Rostov-on-Don in 2024.

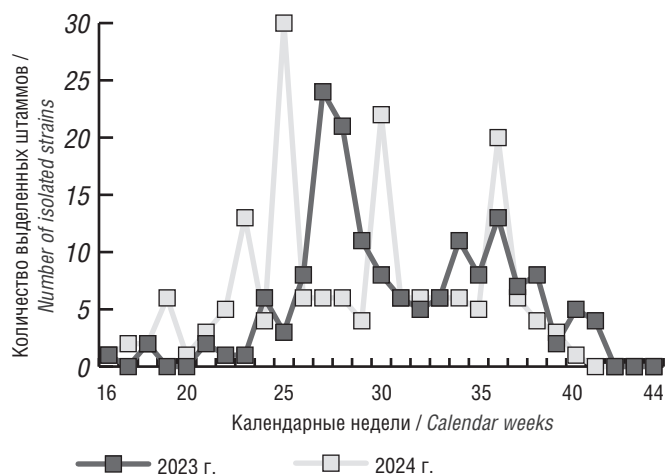


Рис. 4. Динамика выделения токсигенных и нетоксигенных штаммов *V. cholerae* неO1/неO139 в г. Ростове-на-Дону по календарным неделям за 2023–2024 гг.
 Fig. 4. Dynamics of the isolation of toxigenic and non-toxicogenic strains of *V. cholerae* non O1/non O139 in Rostov-on-Don by calendar weeks for 2023–2024.

клинических штаммов серогрупп O1, неO1/неO139 и водных штаммов O1 выявлено не было.

Антибиотикограмма водных изолятов *V. cholerae* O1 EI Tor показала наличие устойчивости к триметоприм/сульфаметоксазолу (12,5%), ампициллину (62,5%), фуразолидону (87,5%), рифампицину (62,5%), доксициклину (12,5%), стрептомицину (37,5%) (рис. 3).

Штаммов, резистентных к ципрофлоксацину, налидиксовой кислоте и тетрациклинам, выявлено не было.

Кроме того, следует отметить ежегодное количественное нарастание с апреля по сентябрь числа штаммов возбудителя холеры серогруппы неO1/неO139. Так, в 2023 г. из поверхностных водоемов г. Ростова-на-Дону было выделено 157 (93,4%) штаммов *V. cholerae* неO1/неO139, тогда как в 2024 г. за этот же период было изолировано 176 (95,6%)

штаммов при температурах ниже оптимальных для роста и размножения возбудителя [13].

Наибольшее количество данных штаммов за изучаемый период было обнаружено в пробах из рек Дон и Темерник: в июне – 62 штамма (35,0% от общего числа вибрионов неO1/неO139) при температуре воды 23°C и в июле – 44 (25,0%) штамма при температуре 24°C. Все штаммы были нетоксигенными (в полимеразной цепной реакции не содержали генов *ctxA* и *tcpA*) (рис. 4).

Заключение

Обнаружение холерных вибрионов серогруппы O1 при температуре воды ниже 15°C обуславливает целесообразность более раннего начала мониторинга холеры (апрель) и более позднего его окончания (октябрь-ноябрь).

Нетоксигенные штаммы холерных вибрионов серогруппы O1 выделяются из водных объектов города практически ежегодно. Это свидетельствует о том, что в воде поверхностных водоемов имеются благоприятные условия для циркуляции холерных вибрионов. Обнаружение токсигенных штаммов холерных вибрионов в водных объектах на фоне эпидемического благополучия по холере можно расценивать как неуставленные завозы. Приведенные данные свидетельствуют о возможности реализации риска распространения инфекции водным путем в случае контаминации водных экосистем.

Вибрионы серогруппы неO1/неO139 вызывают вспышки кишечных инфекций и играют роль в этиологии острых кишечных инфекций во всем мире, представляют потенциальную угрозу здоровью населения нашего региона.

Водные ООС г. Ростова-на-Дону могут служить фактором распространения инфекции в случае завоза холеры, что свидетельствует о целесообразности мониторинговых исследований.

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. Попова АЮ, Носков АК, Ежлова ЕБ, Кругликов ВД, Миронова ЛВ, Монахова ЕВ, и др. Ретроспективный анализ эпидемиологической ситуации по холере в

- Донбасском регионе, Запорожской и Херсонской областях. Здоровье населения и среда обитания – ЗНИСО. 2023;31(11):82-93. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-11-82-93
- Ежова МИ, Могиленко ВС, Дегтерева ОН, Меньшикова ЕА, Дуванова ОН, Егиазарян ЛА, и др. Динамика контаминации холерными вибрионами водных объектов окружающей среды г. Ростова-на-Дону и характеристика биологических свойств выделенных штаммов. Медицинский вестник Юга России. 2025;16(1):81-88. DOI: 10.21886/2219-8075-2025-16-1-81-88
 - МУК 4.2.3746-22 Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня (с Изменением №1) – docs.cntd.ru [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/350414419> (дата обращения: 23.01.2026).
 - Монахова ЕВ, Архангельская ИВ. Холерные вибрионы неО1/неО139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и в мире. Проблемы особо опасных инфекций. 2016;2:14-23. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23
 - Эпидемический надзор за холерой в СССР. Мединский ГМ, Наркевич МИ, Сергиев ВП, Адамов НК. М.: Медицина, 1989.
 - СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
 - МУК 4.2.3745-22. Методы лабораторной диагностики холеры (с Изменением №1) – docs.cntd.ru [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/350413501> (дата обращения: 23.01.2026).
 - Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J Comput Biol. 2012 May;19(5):455-77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
 - Крицкий АА, Смирнова НИ, Каляева ТБ, Оброткина НФ, Грачева ИВ, Катышев АД, и др. Сравнительный анализ молекулярно-генетических свойств нетоксигенных штаммов *Vibrio cholerae* O1 биовара Эль Тор, изолированных в России и на эндемичных по холере территориях. Проблемы особо опасных инфекций. 2021;3:72-82. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-72-82
 - Миронова ЛВ, Бочалгин НО, Гладких АС, Феранчук СИ, Пономарева АС, Балахонов СВ. Филогенетическое положение и особенности структуры геномов ctxAB–tcpA+ *Vibrio cholerae* из поверхностных водоемов на неэндемичной по холере территории. Проблемы особо опасных инфекций. 2020;1:115-123. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-115-123
 - Esteves K, Mosser T, Aujoulat F, Hervio-Heath D, Monfort P, Jumas-Bilak E. Highly diverse recombining populations of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* in French Mediterranean coastal lagoons. Front Microbiol. 2015 Jul 16;6:708. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00708
 - Kirchberger PC, Orata FD, Barlow EJ, Kauffman KM, Case RJ, Polz MF, et al. A Small Number of Phylogenetically Distinct Clonal Complexes Dominate a Coastal *Vibrio cholerae* Population. Appl Environ Microbiol. 2016 Aug 30;82(18):5576-86. DOI: 10.1128/AEM.01177-16
 - Меньшикова ЕА, Архангельская ИВ, Левченко ДА, Курбатова ЕМ, Кругликов ВД, Титова СВ. Влияние температурных флуктуаций воды поверхностных водоемов города Ростова-на-Дону на циркуляцию холерных вибрионов. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А.Овчинникова. 2014;14(4):14-20.
 - properties of isolated strains. Medical Herald of the South of Russia. 2025;16(1):81-88. DOI: 10.21886/2219-8075-2025-16-1-81-88 (In Russian).
 - МУК 4.2.3746-22 Organization and implementation of laboratory diagnostics of cholera in laboratories of various levels (with Amendment No 1) – docs.cntd.ru [Electronic resource]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/350414419> (accessed 23.01.2026). (In Russian).
 - Monakhova EV, Arkhangelskaya IV. Cholera vibrios of non-O1/non-O139 serogroups in the etiology of acute intestinal infections: the current situation in Russia and in the world. Probl. Especially Dangerous Inf. 2016;2:14-23. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23 (In Russian).
 - Epidemiological surveillance of cholera in the USSR. Medinsky GM, Narkevich MI, Sergiev VP, Adamov NK. M.: Medicine, 1989. (In Russian).
 - SanPiN 3.3686-21 "Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases". (In Russian).
 - МУК 4.2.3745-22 Methods of laboratory diagnostics of cholera (with Amendment No 1) – docs.cntd.ru [Electronic resource]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/350413501> (accessed 23.01.2026). (In Russian).
 - Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J Comput Biol. 2012 May;19(5):455-77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
 - Kritsky AA, Smirnova NI, Kalyaeva TB, Obrotkina NF, Gracheva IV, Katsychev AD, et al. Comparative analysis of molecular genetic properties of non-toxicogenic strains of *Vibrio cholerae* O1 biovar El Tor isolated in Russia and in cholera-endemic areas. Problems of Especially Dangerous Infections. 2021;3:72-82. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-72-82 (In Russian).
 - Mironova LV, Bochalgin NO, Gladkikh AS, Feranchuk SI, Ponomareva AS, Balakhonov SV. Phylogenetic position and structural features of ctxAB–tcpA+ *Vibrio cholerae* genomes from surface water bodies in a non-endemic cholera area. Problems of Especially Dangerous Infections. 2020;1:115-123. DOI: 10.21055/0370-1069-2020-1-115-123 (In Russian).
 - Esteves K, Mosser T, Aujoulat F, Hervio-Heath D, Monfort P, Jumas-Bilak E. Highly diverse recombining populations of *Vibrio cholerae* and *Vibrio parahaemolyticus* in French Mediterranean coastal lagoons. Front Microbiol. 2015 Jul 16;6:708. DOI: 10.3389/fmicb.2015.00708
 - Kirchberger PC, Orata FD, Barlow EJ, Kauffman KM, Case RJ, Polz MF, et al. A Small Number of Phylogenetically Distinct Clonal Complexes Dominate a Coastal *Vibrio cholerae* Population. Appl Environ Microbiol. 2016 Aug 30;82(18):5576-86. DOI: 10.1128/AEM.01177-16
 - Menshikova EA, Arkhangelskaya IV, Levchenko DA, Kurbatova EM, Kругликов VD, Titova SV. Influence of temperature fluctuations of water in surface reservoirs of the city of Rostov-on-Don on the circulation of cholera vibrios. Bulletin of Biotechnology and Physico-Chemical Biology n.a. Yu.A.Ovchinnikov. 2014;14(4):14-20. (In Russian).
-
- Информация о соавторах:**
Меньшикова Елена Аркадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-5814-2947
Ежова Мария Ивановна, научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-4254-3313
Подойницына Оксана Андреевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-9996-4189
Казьмина Виктория Сергеевна, лаборант отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0009-0007-0942-8918

References

- Popova AYU, Noskov AK, Ezhlova EB, Kruglikov VD, Mironova LV, Monakhova EV, et al. Retrospective analysis of the cholera situation in the Donbass Region, Zaporozhye and Kherson Regions. Public Health and Life Environment – PH&LE. 2023;31(11):82-93. DOI: 10.35627/2219-5238/2023-31-11-82-93 (In Russian).
- Ezhova MI, Mogilenko VS, Degtyareva ON, Menshikova EA, Duванова OV, Yeghiazaryan LA, et al. Dynamics of contamination by *Vibrio cholerae* of water bodies of the Rostov-on-Don environment and characteristics of biological

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

Гаевская Наталья Евгеньевна, кандидат медицинских наук, директор ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-0762-3628

Теплякова Елена Дмитриевна, доктор медицинских наук, первый заместитель министра здравоохранения Ростовской области, Министерство здравоохранения Ростовской области.

Information about co-authors:

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
ORCID: 0000-0002-5814-2947

Maria I. Ezhova, Research Fellow, Department of Cholera Microbiology and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0003-4254-3313

Oksana A. Podoinitsyna, 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
ORCID: 0000-0002-9996-4189

Victoria S. Kazmina, laboratory assistant, Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор
ORCID: 0009-0007-0942-8918

Vladimir D. Kruglikov, MD, PhD, DSc, Chief Researcher, Acting Head 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

Natalia E. Gaevskaya, PhD, MD, Director of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0002-0762-3628

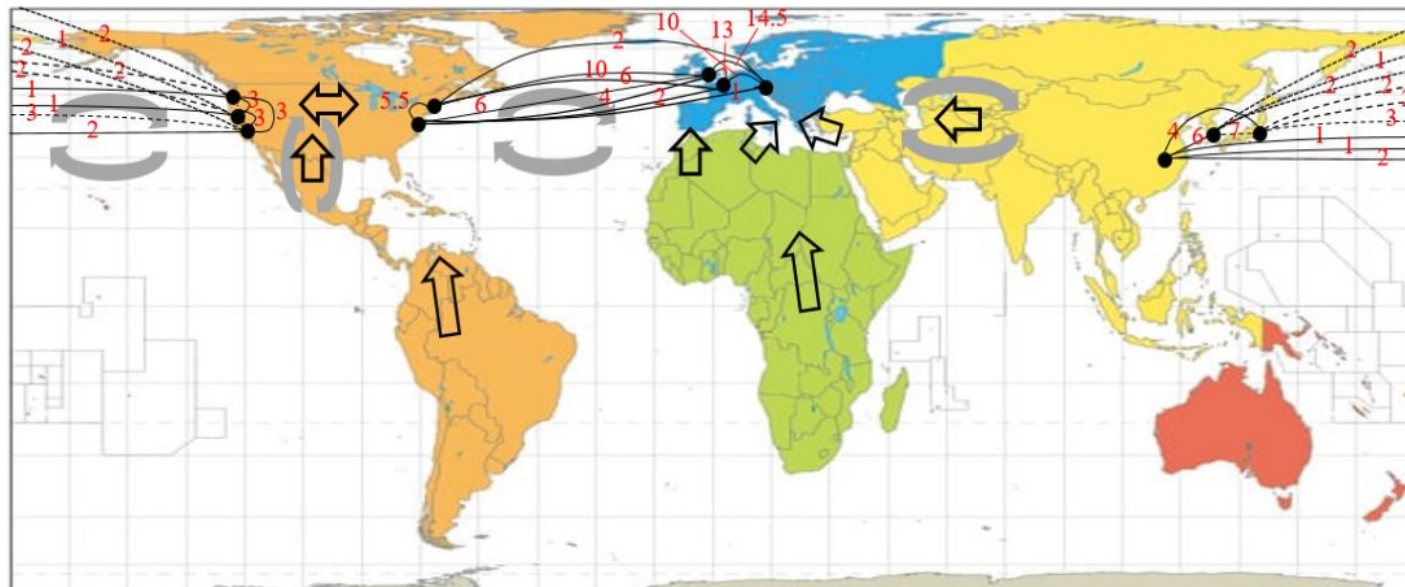
Elena D. Teplyakova, MD, PhD, DSc, First Deputy Minister of Health of the Rostov Region, Ministry of Health of the Rostov Region.

НОВОСТИ НАУКИ

Математическое моделирование распространения COVID-19

В настоящей публикации рассматривается распространение COVID-19 с глобальной точки зрения, используя математический аппарат.

С момента первоначальной вспышки в Ухане, Китай, применяются методы теории графов и матричной алгебры для анализа. Анализ выявил аэропорты Сеула и Лондона как ключевые узлы, требующие усиленного скрининга пассажиров для минимизации риска глобального распространения инфекционных заболеваний посредством воздушных перевозок.



Следует отметить, что след матрицы смежности, характеризующей сеть авиарейсов, прямо пропорционален уровню риска заражения в данной сети.

Исследование демонстрирует, что незначительные модификации структуры сети могут привести к существенному снижению риска заражения при минимальном сокращении пассажиропотока.

Оценка риска заражения, связанного с миграцией населения, представляет собой более сложную задачу по сравнению с оценкой риска, связанного с авиоперевозками, хотя оба фактора взаимосвязаны.

Теория хаоса указывает на то, что при инфекционности заболевания (характеризуемой базовым числом воспроизводства) выше определенного порога (примерно 4), предсказание будущего объема активных случаев становится затруднительным. Это явление обусловлено экстремальной чувствительностью к начальным условиям, что означает, что отдельные случаи могут оказывать значительное влияние на траекторию пандемии, делая точные долгосрочные прогнозы невозможными.

Выявление генетических детерминант устойчивости к тяжелым металлам в геномах *Vibrio cholerae*

А.В.Евтеев, С.О.Водопьянов, А.С.Водопьянов, Р.В.Писанов

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

Актуальность работы обусловлена проблемой идентификации генетических факторов, обеспечивающих персистенцию холерных вибрионов с позиции их устойчивости к тяжелым металлам (ТМ). Целью работы было создание базы данных MetGenes и программной оболочки HeavyMetallsAnalyser, позволяющей проводить поиск генов, обеспечивающих устойчивость к ТМ, осуществленной с использованием ресурсов BacMet, UniProt, NCBI и открытых публикаций. База MetGenes объемом 6,58 Мб содержит информацию о 5125 генах устойчивости и предназначена для анализа данных секвенирования и поиска детерминант устойчивости к ТМ без необходимости подключения к сети Интернет. Разработанный программный продукт апробирован при анализе полных нуклеотидных последовательностей 38 штаммов *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 (НАГ-вибрионов) различных серогрупп, выделенных на территории Российской Федерации из объектов окружающей среды и клинического материала в рамках ежегодного мониторинга холеры. В изученной выборке геномов идентифицировано 44 гена устойчивости к ТМ, которые разделили на 2 группы. К 1-й группе относились гены, которые присутствуют во всех штаммах, например *Zinc ribbon-containing protein*, *Zinc ABC transporter periplasmic zinc-binding protein*, ко 2-й – гены, которые присутствуют в единичных штаммах, например *acr3 family arsenite efflux transporter*. Данный ген был обнаружен в 12 штаммах НАГ-вибрионов, выделенных в 2024 г., из них 1 штамм клинический, а остальные 11 изолятов были выделены из объектов окружающей среды. При этом среди изученных культур, выделенных в 2023 г., данный ген нами обнаружен не был. *CzcC* был обнаружен нами в 4 штаммах НАГ-вибрионов (1 клинический, 3 из объектов окружающей среды), выделенных в 2023 г., в то время как среди штаммов 2024 г. данный ген обнаружен не был. Созданная база данных MetGenes и программная оболочка HeavyMetallsAnalyser представляют собой эффективный инструмент для изучения генетических механизмов устойчивости микроорганизмов к широкому спектру ТМ.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*, тяжелые металлы, база данных, гены резистентности, анализ полногеномных сиквенсов

Для цитирования: Евтеев А.В., Водопьянов С.О., Водопьянов А.С., Писанов Р.В. Выявление генетических детерминант устойчивости к тяжелым металлам в геномах *Vibrio cholerae*. Бактериология. 2026; 11(1): 19–25. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-19-25

Identification of genetic determinants of heavy metal resistance in *Vibrio cholerae* genomes

A.V.Evteev, S.O.Vodopyanov, A.S.Vodopyanov, R.V.Pisanov

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation

The relevance of this study stems from the challenge of identifying genetic factors that ensure the persistence of cholera vibrio in terms of their resistance to heavy metals (HM). The aim of the work was to create the “MetGenes” database and the “HeavyMetallsAnalyser” software package, which enable the search for genes responsible for HM resistance, using data from the BacMet, UniProt, NCBI databases and open scientific publications.

The “MetGenes” database (6.58 MB) contains information on 5,125 resistance genes and is designed for sequencing data analysis and identification of heavy metal resistance determinants without requiring an Internet connection. The developed software product was tested on the analysis of complete nucleotide sequences of 38 *Vibrio cholerae* nonO1/nonO139 strains of various serogroups, isolated within the Russian Federation from environmental sources and clinical material as part of the annual cholera monitoring program.

In the studied genome set, 44 heavy metal resistance genes were identified and divided into two groups. The first group included genes found in all strains, such as *Zinc ribbon-containing protein* and *Zinc ABC transporter periplasmic zinc-binding protein*. The second group included genes present only in individual strains, such as the *acr3 family arsenite efflux transporter*. This gene was found in twelve non-agglutinating *Vibrio* (NAG) strains isolated in 2024, including one clinical strain and eleven environmental isolates. Among the strains isolated in 2023, this gene was not detected. The *CzcC* gene was identified in four NAG strains (one clinical, three environmental) isolated in 2023, while it was absent among the 2024 isolates.

Для корреспонденции:

Евтеев Артём Владимирович, 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

Телефон: (863) 240-9133

E-mail: evteev_av@antiplague.ru

ORCID: 0000-0002-0087-9153

Статья поступила 15.10.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Artem V. Evteev, Junior Researcher, department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rosпотребнадзор

Address: 117/40 M.Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation

Phone: (863) 240-9133

E-mail: evteev_av@antiplague.ru

ORCID: 0000-0002-0087-9153

The article was received 15.10.2025, accepted for publication 30.03.2026

The developed “MetGenes” database and “HeavyMetalsAnalyser” software represent effective tools for studying the genetic mechanisms of microbial resistance to a wide range of HM.

Key words: *Vibrio cholerae*, heavy metals, database, resistance genes, whole-genome sequencing analysis

For citation: Evteev A.V., Vodopyanov S.O., Vodopyanov A.S., Pisanov R.V. Identification of genetic determinants of heavy metal resistance in *Vibrio cholerae* genomes. Bacteriology. 2026; 11(1): 19–25. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-19-25

Антропогенное загрязнение окружающей среды тяжелыми металлами (ТМ) – мышьяком, ртутью, кадмием и др. – является одной из наиболее актуальных экологических проблем, оказывая негативное воздействие на биосферу и создавая селективное давление на микроорганизмы [1, 2]. Одним из ключевых факторов выживаемости бактерий в таких условиях выступает устойчивость к ТМ, определяемая детерминантами резистентности [3]. Однако системный анализ таких генов осложняется разрозненностью информации, дублированием данных в различных базах (BacMet, NCBI, UniProt, AMRFinder), а также ограничениями их использования, включая необходимость постоянного интернет-подключения [4, 5]. В связи с этим актуальной задачей является создание автономных отечественных программных инструментов, обеспечивающих идентификацию генов металлорезистентности по данным полногеномного секвенирования [6, 7].

Особое внимание заслуживает возбудитель холеры *Vibrio cholerae*, который обладает высоким персистентным потенциалом, позволяющим выживать в загрязненных водоемах [8]. Данные молекулярно-генетических исследований свидетельствуют о том, что отдельные клоны *V. cholerae* O1, принадлежащие к некоторым кластерам, способны сохраняться длительное время [9]. Ранее выявлены потенциальные детерминанты, связанные с персистенцией нетоксигенных изолятов серогруппы O1: ген холодового шока (*csH1*) и ген *arsB*, кодирующий белок семейства ACR3 – эффлюкс-транспортер мышьяка, обеспечивающий устойчивость к его токсическому действию [10].

Система CzcCBA, относящаяся к семейству RND-транспортеров, обеспечивает устойчивость к кадмию, цинку и кобальту за счет активного выведения катионов из клетки [11–14]. Белок CzcC формирует канал наружной мембраны, взаимодействуя с белками CzcA и CzcB, и, хотя его утрата оказывает менее выраженный эффект, чем отсутствие CzcA или CzcB, данный белок играет вспомогательную роль в поддержании клеточного гомеостаза и повышении адаптивного потенциала бактерий в условиях повышенной концентрации ТМ. CzcC, CzcB и CzcA кодируют мембранный белковый комплекс, который обеспечивает устойчивость к ТМ за счет активного оттока катионов, управляемого катион-протонным антипортером. CzcC – белок наружной мембраны, участвующий в формировании канала для выведения ионов металлов из клетки. CzcB – периплазматический белок, выполняющий роль соединителя между CzcC и CzcA. CzcA – аналог RND, внутримембранный белок с несколькими трансмембранными α -спиралями, обеспечивающий основной транспортный поток ионов металлов. Утрата белков CzcA или CzcB приводит к значительному увеличению чувствительности клеток к кадмию, цинку и кобальту. Утрата CzcC оказывает менее выраженное влияние, что указывает на вспомогательную роль данного белка в системе. Белок CzcC также участвует в соз-

дании пути для выведения ионов металлов за пределы клетки; формирует трехкомпонентный комплекс с белками CzcB и CzcA; обеспечивает защиту клетки от токсичных концентраций кадмия, цинка и кобальта; участвует в регуляции внутриклеточного гомеостаза ионов металлов, необходимого для поддержания жизнеспособности клетки. Система CzcCBA представляет собой важный механизм адаптации бактерий к изменяющимся условиям окружающей среды, связанным с воздействием ТМ [13–16].

V. cholerae nonO1/nonO139 (НАГ-вибрионы) широко распространены в природных экосистемах и представляют потенциальную угрозу здоровью населения. Эти штаммы отличаются высокой генетической изменчивостью и значительной адаптивной способностью. В отличие от клинических изолятов, штаммы, выделенные из объектов окружающей среды (ООС), демонстрируют более выраженную генетическую гетерогенность. Несмотря на ограниченный набор факторов патогенности, они сохраняют ключевые детерминанты персистенции, включая *hapA* (гемагглютинин-протеазу) и *cef* (колониционный фактор), которые обеспечивают сохранение жизнеспособности в неблагоприятных условиях [10]. НАГ-вибрионы рассматриваются как важный естественный резервуар генов, включая детерминанты устойчивости к антимикробным агентам и неблагоприятным факторам среды, что повышает их эпидемиологическое значение. Известно, что в геномах этих микроорганизмов широко распространены интегративные конъюгативные элементы (ICEs), ассоциированные с устойчивостью как к антибиотикам, так и к ТМ [17].

Следует подчеркнуть, что сведения о генах металлорезистентности у НАГ-вибрионов крайне ограничены. Большинство исследований сосредоточено на антибиотикорезистентности и факторах патогенности, тогда как данные о генетических детерминантах устойчивости к ТМ практически отсутствуют [18]. Между тем именно штаммы, циркулирующие в природных водоемах и контактирующие с техногенными источниками загрязнения (промышленные стоки, сельскохозяйственные сбросы, ТМ) могут играть ключевую роль в формировании и передаче генов устойчивости, способствуя долговременной персистенции *V. cholerae* в окружающей среде [19].

Целью настоящего исследования являлось выявление генетических детерминант устойчивости к тяжелым металлам у штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 с использованием созданных программных инструментов и сравнение полученных результатов с существующими базами данных.

Материалы и методы

Для анализа в работе использовали нуклеотидные последовательности 38 штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139, выделенных на территории Российской Федерации из ООС,

клинического материала в 2023–2024 гг. в рамках ежегодного мониторинга холеры. Секвенирование проведено в ходе выполнения стратегической инициативы социально-экономического развития Российской Федерации до 2030 г. «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)». Полногеномное секвенирование проводилось с использованием платформы MiSeq (Illumina, США) с набором реагентов MiSeq Reagent Kit. Библиотеку фрагментов ДНК получали с помощью набора реагентов Illumina Nextera XT DNA Sample Prep Kit (Illumina, США) согласно инструкции производителя. Для индексирования библиотек использовали набор Nextera XT Index Kit (Illumina, США). Сборка геномов выполнялась программой SPAdes v. 3.15.4 [20].

База данных MetGenes (6,58 Мб) создана на основе ресурсов VacMet, UniProt, NCBI и опубликованных данных. В нее включено 5125 генов, сгруппированных по типу металла и функциональной роли. База экспортируется в форматы CSV/TSV для интеграции с другими инструментами. Серотипы штаммов определяли с помощью SeqAnalyzer версии 2.4.0 [21].

Программа HeavyMetalsAnalyser разработана на Java и предназначена для анализа FASTA-файлов объемом до 10 Мб. Поиск выполняется с использованием алгоритмов BLASTX v.2.12.0+, с пороговыми значениями идентичности $\geq 90\%$, длиной совпадения ≥ 30 аминокислот и $e\text{-value} \leq 1e^{-5}$. Итоговый отчет содержит список генов с указанием функции и уровня сходства. Сравнение работы HeavyMetalsAnalyser проводили с использованием баз VacMet и AMRFinder для оценки точности и чувствительности поиска генов, связанных с устойчивостью к ТМ. Анализ проводился путем выполнения последовательного поиска гомологичных белковых последовательностей на основе нуклеотидных данных.

Результаты исследования и их обсуждение

База данных MetGenes включает данные о генах резистентности к мышьяку, цинку, никелю, теллуру, кобальту, ртути и кадмию. Распределение по металлам представлено в табл. 1.

База данных MetGenes объемом 6,58 Мб включает информацию о 5125 генах, обеспечивающих устойчивость к ТМ, включая такие значимые загрязнители, как мышьяк, цинк, кадмий, никель и теллур. База данных совместима с различными операционными системами и поддерживает экспорт данных для интеграции с другими программными системами. Гены в составе базы структурированы по типу металлов, к которым они обеспечивают устойчивость, а также по предполагаемым функциям и фенотипам индуцированной устойчивости. Важной особенностью базы данных является возможность фильтрации генов по заданным параметрам, что упрощает анализ и позволяет исследователям сосредоточиться на конкретных металлах или фенотипах. Данные о металлах и количестве генов в базе данных MetGenes представлены в табл. 1.

Программа для ЭВМ HeavyMetalsAnalyser представляет собой кроссплатформенную Java-программу, предназначенную для анализа полногеномных сиквенсов (FASTA-файлы до 10 Мб). Анализ включает:

Таблица 1. Число генов резистентности к различным тяжелым металлам в составе базы данных MetGenes
Table 1. Number of genes for resistance to various heavy metals in the MetGenes database

Тяжелый металл / Heavy metal	Количество генов резистентности / Number of resistance genes
Мышьяк (As)	309
Цинк (Zn)	2061
Никель (Ni)	392
Теллур (Te)	353
Кобальт (Co)	228
Ртуть (Hg)	75
Кадмий (Cd)	48
Комплекс тяжелых металлов (heavy metal complex)	357
Другие (Other)	1302

Подготовительный этап

Конфигурация XML-файла с путями к FASTA-файлам и базе данных MetGenes.

Установление параметров поиска: минимальное сходство (90%), порог $e\text{-value}$ ($1e^{-5}$), минимальная идентичность (50%).

Идентификация открытых рамок считывания (ORFs)

Программа находит старт-кодоны (ATG, GTG, TTG) и стоп-кодоны (TAG, TAA, TGA).

Минимальная длина – 100 нуклеотидов, минимальная длина белка – 30 аминокислот.

Сравнение с базой данных MetGenes (BLASTX)

Использование BLASTX версии 2.12.0+ для выявления сходства аминокислотных последовательностей.

Отбор совпадений при проценте идентичности не менее 90% и длине совпадения не менее 30 аминокислот.

Генерация отчетов

Итоговый текстовый отчет включает список идентифицированных генов с указанием процента сходства, названия и функции гена.

Время анализа одного файла составляет 10–20 мин.

В 38 геномах *V. cholerae* nonO1/nonO139 было выявлено 44 гена устойчивости к ТМ, разделенных на 2 группы:

- конститутивные (14 генов) – присутствовали во всех исследованных штаммах (например, *zinc ribbon-containing protein*, *zinc ABC transporter*, *tellurite resistance protein*, *terC/als*);
- вариабельные – обнаруживались лишь в отдельных изолятах (например, *acr3 family arsenite efflux transporter*, *ArsR/SmtB*).

Ген *acr3* обнаружен в 12 штаммах 2024 г. (1 клинический, 11 из объектов окружающей среды), но отсутствовал в изолятах 2023 г. Ген *czcC*, кодирующий компонент системы CzcCBA, был найден в 4 штаммах 2023 г., но не выявлен в выборке 2024 г. [22]. К данной группе относится ген *ACR3 family arsenite efflux transporter*, опосредующий эффлюкс – арсенит-протонный обмен, выбрасывая ионы арсенита из

Таблица 2. Распределение штаммов по году выделения и серогруппе
 Table 2. Distribution of strains by year of isolation and serogroup

№ п/п	Год исследования / Year of study	Число выделенных штаммов / Number of isolated strains	Серогруппы (число штаммов данной серогруппы) / Serogroups (number of strains of a given serogroup)
1	2023	14	O49 (3), O159-like (2), O40-like (1), O5 (1), O2 (1), O162 (1), O136 (2), O79-like (1), O4 (1), O43-like (1)
2	2024	24	O119 (1), O198 (1), O207-like (3), O23 (3), O52 (2), O39 (2), O51-like (3), O157 (1), O136 (2), O8 (3), O19 (1), O2 (1), O94-like (1)

клетки [23]. Данный ген был обнаружен в 12 штаммах 2024 г., включая 1 клинический и 11 из ООС. При этом среди изученных культур, выделенных в 2023 г., данный ген нами обнаружен не был.

Устойчивость к мышьяку у бактерий, как правило, обеспечивается хромосомными или плазмидными оперонами *ars*, контролируемые транскрипционными репрессорами семейства *arsR/smtB* [24, 25]. В настоящем исследовании белок UPI001EEC9B59 (*arsR/smtB*) был выявлен во всех штаммах 2023 и 2024 гг., что подтверждает его значение как ключевого регулятора. В то же время ген *UPI0011D53CBA*, кодирующий металлорегулятор семейства *arsR/smtB*, был обнаружен лишь в 2 штаммах 2023 г. из ООС. Данные белки играют важную роль в регуляции экспрессии генов детоксикации, активируя их при повышенных концентрациях металлов и обеспечивая адаптацию клеток к токсическим условиям [26].

Наиболее распространенными серогруппами у НАГ-вибрионов в 2023 г. были: O49, O159-like, O40-like, O136, O162. В то же время серогруппа O49 встречалась у ряда штаммов, что может свидетельствовать о ее более широкой циркуляции среди НАГ-вибрионов.

Среди конститутивных генов особое значение имеет *arsR/smtB*, присутствие которого во всех геномах указывает на его эволюционное закрепление как универсального механизма резистентности к мышьяку. В изученных штаммах этот белок отсутствует, что может быть связано с использованием альтернативных механизмов эффлюкса ионов мышьяка [11, 27].

Белок семейства CzcC (ген *D0IJL8*), являющийся компонентом системы CzcCBA, был обнаружен в 4 штаммах 2023 г. (1 клинический, 3 из ООС), однако отсутствовал в изолятах 2024 г.

Сравнение серогрупп показало, что в 2023 г. наиболее распространенной была O49, наряду с O159-like, O40-like, O136 и O162. В 2024 г. доминировали серогруппы O119, O198, O207-like, O23 и O52; при этом некоторые серогруппы (O136, O23, O207-like) встречались в оба периода (табл. 2). Присутствие белка UPI001EEC9B59 (*ArsR/SmtB*) во всех геномах исследованных штаммов подтверждает использование универсального механизма резистентности к мышьяку, тогда как выявление ACR3 и CzcC только в отдельных изолятах отражает вариабельность генетического репертуара и свидетельствует о существовании альтернативных адаптивных стратегий.

К числу ключевых белков штаммов *V. cholerae* nonO1/nonO139 2024 г. выделения, связанных с устойчивостью к мышьяку, относились:

UPI001EEC9B59 (*ArsR/SmtB*) – металлорегулятор, выявленный во всех исследованных штаммах, что еще раз под-

тверждает его фундаментальное значение в механизмах адаптации к ионам мышьяка;

UPI0018F069ED (ACR3 family arsenite efflux transporter) – транспортер, обнаруженный в 12 штаммах НАГ-вибрионов (1 клиническом и 11 из ООС), тогда как среди изолятов 2023 г. он отсутствовал. Эта особенность может свидетельствовать о привлечении альтернативных механизмов выведения мышьяка у штаммов более ранней изоляции.

Наличие ACR3 у значительной части изолятов 2024 г. указывает на функционирование дополнительного механизма активного эффлюкса арсенита, что потенциально усиливает устойчивость данных штаммов к мышьяку. При этом *ArsR/SmtB* оставался ключевым регулятором устойчивости как для изолятов 2023 г., так и для штаммов следующего года (рисунок).

Для оценки эффективности созданной базы данных был проведен сравнительный анализ с использованием существующих ресурсов. Использование AMRFinder позволило выявить исключительно гены, связанные с антибиотикорезистентностью; детерминанты устойчивости к ТМ в исследованных штаммах обнаружены не были. В свою очередь, VacMet обеспечивал идентификацию генов, связанных с металлорезистентностью, однако полученные результаты характеризовались низким уровнем идентичности ($\leq 50\%$) и отсутствием возможности фильтрации по виду, что усложня-

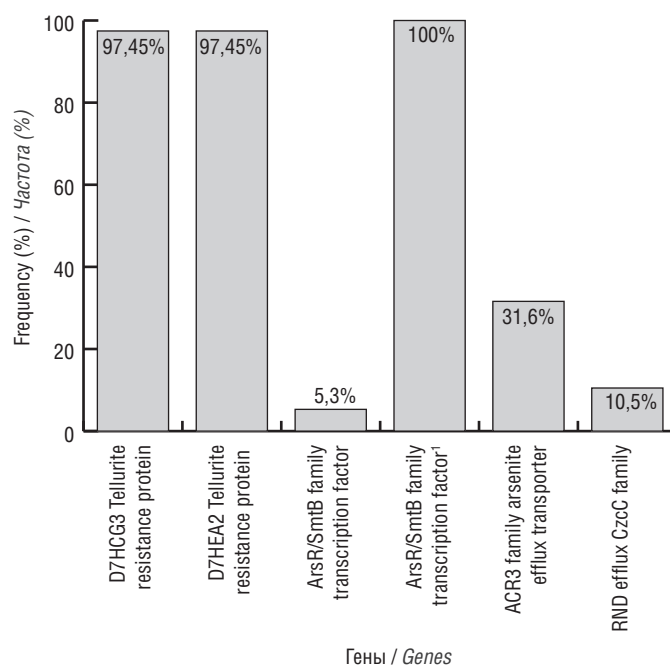


Рисунок. Суммарное распределение генов устойчивости к ТМ у *V. cholerae* в 2023–2024 гг.
 Figure. Total distribution of TM resistance genes in *V. cholerae* in 2023–2024.

ло интерпретацию данных. Кроме того, формат выходных таблиц требовал дополнительной обработки для корректного выделения информации.

Таким образом, AMRFinder продемонстрировал высокую надежность в отношении антибиотикорезистентности, но оказался неприменимым для анализа металлорезистентности. Напротив, VacMet позволил выявить соответствующие гены, однако ограниченные функциональные возможности и низкие показатели идентичности существенно осложняют их интерпретацию. Тем не менее именно с помощью VacMet удалось зафиксировать у исследованных штаммов наличие детерминант, связанных с устойчивостью к ТМ, и выявить гены, связанные с лекарственной устойчивостью.

К числу конститутивных генов мы отнесли те, которые выявлялись во всех исследованных геномах. Эти детерминанты формируют основу генетического профиля устойчивости и обеспечивают базовый уровень адаптации микроорганизма к неблагоприятным условиям. Их постоянное присутствие указывает на эволюционное значение данных генов как ключевых элементов персистенции холерного вибриона в природных водоемах, а также на их возможную роль в долговременном сохранении популяции и поддержании экологической стабильности возбудителя.

К данной группе относились:

- BAC0425|vexD|trIQ9KR85|Q9KR85_VIBCH – транспортер семейства AcrB/D/F, обеспечивающий удаление токсичных веществ из клетки;
- BAC0528|vexC|trIQ9KR86|Q9KR86_VIBCH – предполагаемый периплазматический белок, участвующий в переносе молекул;
- BAC0427|vexF|trIA6P7H3|A6P7H3_VIBCL – транспортер множественной лекарственной устойчивости;
- BAC0423|vcrM|trIF8RKZ1|F8RKZ1_VIBCL – белок VcrM, участвующий в ответе на химический стресс;
- BAC0422|vcmA|splQ9KRU4|INORM_VIBCH – белок NorM, обеспечивающий выведение антибиотиков.

В отличие от этого стабильного набора, переменные гены встречались только у отдельных изолятов *V. cholerae* nonO1/nonO139, что отражает их генетическую гетерогенность и способность к формированию уникальных адаптивных стратегий. Данная группа включает:

- BAC0534|emrD-3|trIA5EYZ6|A5EYZ6_VIBC3 – ген, связанный с устойчивостью к многокомпонентным антибиотикам;
- BAC0421|vceR|trIQ9KS52|Q9KS52_VIBCH – регулятор устойчивости к тетрациклину;
- BAC0159|fabV|splQ9KRA3|Y1738_VIBCH – ген, участвующий в синтезе жирных кислот, что может косвенно способствовать развитию резистентности.

Таким образом, конститутивные гены представляют собой «базовый пул» резистентности, обеспечивающий сохранение устойчивости во всех штаммах, тогда как переменные детерминанты отражают индивидуальные особенности отдельных изолятов и могут способствовать расширению спектра адаптивных возможностей популяции *V. cholerae*.

Выявленные гены преимущественно ассоциированы с транспортом различных ионов и формированием адаптивных ответов на внешние стрессовые воздействия, что подтверждает возможность существования у *V. cholerae* раз-

личных механизмов лекарственной устойчивости. Часть этих генов может представлять интерес в качестве перспективных мишеней для разработки новых антибактериальных препаратов, а также использоваться в диагностике резистентности. Полученные результаты демонстрируют выраженную генетическую гетерогенность исследованных геномов *V. cholerae* nonO1/nonO139 по детерминантам устойчивости к ТМ. Использование созданных программных инструментов в дальнейшем позволит расширить анализ штаммов различного происхождения и оценить динамику формирования металлорезистентности. Представленная работа является одной из первых системных попыток изучения генетических основ устойчивости *V. cholerae* к ТМ и формирует основу для последующих исследований в этом направлении.

Заключение

Таким образом, в ходе проведенного исследования с помощью разработанного программного продукта установлено, что в клетках НАГ, циркулирующих в России, присутствует набор генов устойчивости к ТМ, которые опосредуют различные типы резистентности. Эти данные могут способствовать пониманию механизмов регуляции устойчивости холерного вибриона и его способности к выживанию в природных и антропогенно измененных экосистемах. С учетом большой распространенности НАГ и способности к передаче генов вибрионам серогруппы O1 дальнейшее изучение позволит оценить влияние выявленных генов на выживаемость *V. cholerae*, в т.ч. в условиях, моделирующих природные водоемы, загрязненные ТМ.

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. Евтеев АВ, Водопьянов СО. Генетическая обусловленность устойчивости к тяжелым металлам и ее связь с антибиотикорезистентностью у микроорганизмов, в том числе у бактерий рода *Vibrio*. Бактериология. 2024;9(3):97-104. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-3-97-104

2. Wuana RA, Okieimen FE. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. ISRN Ecology. 2011;1-20.
3. Song Y, Yu P, Li B, Pan Y, Zhang X, Cong J, et al. The mosaic accessory gene structures of the SXT/R391-like integrative and conjugative elements derived from *Vibrio* spp. isolated from aquatic products and environment in the Yangtze River Estuary, China. BMC Microbiol. 2013 Sep 30;13:214. DOI: 10.1186/1471-2180-13-214
4. Pal C, Bengtsson-Palme J, Rensing C, Kristiansson E, Larsson DG. BacMet: antibacterial biocide and metal resistance genes database. Nucleic Acids Res. 2014 Jan;42(Database issue):D737-43. doi: 10.1093/nar/gkt1252
5. Feldgarden M, Brover V, Gonzalez-Escalona N, Frye JG, Haendiges J, Haft DH, et al. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. Sci Rep. 2021 Jun 16;11(1):12728. DOI: 10.1038/s41598-021-91456-0
6. Xu M, Wu J, Chen L. Virulence, antimicrobial and heavy metal tolerance, and genetic diversity of *Vibrio cholerae* recovered from commonly consumed freshwater fish. Environ Sci Pollut Res Int. 2019 Sep;26(26):27338-27352. DOI: 10.1007/s11356-019-05287-8
7. Fu H, Yu P, Liang W, Kan B, Peng X, Chen L. Virulence, Resistance, and Genomic Fingerprint Traits of *Vibrio cholerae* Isolated from 12 Species of Aquatic Products in Shanghai, China. Microb Drug Resist. 2020 Dec;26(12):1526-1539. DOI: 10.1089/mdr.2020.0269
8. Монахова ЕВ, Архангельская ИВ. Холерные вибрионы nonO1/nonO139 серогрупп в этиологии острых кишечных инфекций: современная ситуация в России и в мире. Проблемы особо опасных инфекций. 2016;2:14-23. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23
9. Носков АК, Кругликов ВД, Москвитина ЭА, Монахова ЕВ, Левченко ДА, Янович ЕГ, и др. Характеристика эпидемиологической ситуации по холере в мире и в Российской Федерации в 2020 г. и прогноз на 2021 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2021;1:43-51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-43-51
10. Бородина ОВ, Водопьянов СО, Водопьянов АС, Олейников ИП, Чемисова ОС, Полева МВ. Изучение встречаемости гена холодового шока *csH1* у штаммов *Vibrio cholerae*, циркулирующих на территории Российской Федерации. Бактериология. 2021;6(3):22-23.
11. Saha RP, Samanta S, Patra S, Sarkar D, Saha A, Singh MK. Metal homeostasis in bacteria: the role of ArsR-SmtB family of transcriptional repressors in combating varying metal concentrations in the environment. Biometals. 2017 Aug;30(4):459-503. DOI: 10.1007/s10534-017-0020-3
12. Nesler A, DalCorso G, Fasani E, Manara A, Di Sansebastiano GP, Argese E, et al. Functional components of the bacterial CzcCBA efflux system reduce cadmium uptake and accumulation in transgenic tobacco plants. N Biotechnol. 2017 Mar 25;35:54-61. DOI: 10.1016/j.nbt.2016.11.006
13. Rensing C, Pribyl T, Nies DH. New functions for the three subunits of the CzcCBA cation-proton antiporter. J Bacteriol. 1997 Nov;179(22):6871-9. DOI: 10.1128/jb.179.22.6871-6879.1997
14. Nies DH. The cobalt, zinc, and cadmium efflux system CzcABC from *Alcaligenes eutrophus* functions as a cation-proton antiporter in *Escherichia coli*. J Bacteriol. 1995 May;177(10):2707-12. DOI: 10.1128/jb.177.10.2707-2712.1995
15. Kim EH, Nies DH, McEvoy MM, Rensing C. Switch or funnel: how RND-type transport systems control periplasmic metal homeostasis. J Bacteriol. 2011 May;193(10):2381-7. DOI: 10.1128/JB.01323-10
16. Janssen PJ, Van Houdt R, Moors H, Monsieurs P, Morin N, Michaux A, et al. The complete genome sequence of *Cupriavidus metallidurans* strain CH34, a master survivalist in harsh and anthropogenic environments. PLoS One. 2010 May 5;5(5):e10433. DOI: 10.1371/journal.pone.0010433
17. Costa WF, Giambiagi-deMarval M, Laport MS. Antibiotic and Heavy Metal Susceptibility of Non-Cholera *Vibrio* Isolated from Marine Sponges and Sea Urchins: Could They Pose a Potential Risk to Public Health? Antibiotics (Basel). 2021 Dec 20;10(12):1561. DOI: 10.3390/antibiotics10121561
18. Su J, Zhang Y, Hu T, Ming H, Xie Y, Jin Y, et al. Prevalence, antibiotic and heavy metal resistance of *Vibrio* spp. isolated from the clam *Meretrix meretrix* at different ages in Geligang, Liaohe estuary in China. Frontiers in Marine Science. 2022;9:1071371. DOI: 10.3389/fmars.2022.1071371
19. Siamalube B, Ehinmitan E. *Vibrio cholerae*: Understanding a persistent pathogen in Sub-Saharan Africa and the East Mediterranean Region. Pathog Dis. 2025 Jan 30;83:ftaf004. DOI: 10.1093/femspd/ftaf004
20. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J Comput Biol. 2012 May;19(5):455-77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
21. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ №2017613695 Российская Федерация. SeqAnalyzer-программа для анализа результатов полногеномного секвенирования *Vibrio cholerae*, определения кратности варьируемых тандемных повторов (VNTR) и выявления INDEL-маркеров: №2016662799: заявл. 24.11.2016: опубл. 24.03.2017. Водопьянов АС, Водопьянов СО, Писанов РВ, и др.; заявитель Федеральное казенное учреждение здравоохранения «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.
22. Bhattacharjee H, Rosen BP. Arsenic metabolism in prokaryotic and eukaryotic microbes. In: Nies DH, Silver S, editors. Molecular Microbiology of Heavy Metals. Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 2007;371-406.
23. Водопьянов СО, Евтеев АВ, Герасименко АА, Водопьянов АС, Ежова МИ, Меньшикова ЕА, и др. Комплексный генетический анализ штаммов *Vibrio cholerae* O1 El Tor, выделенных на территории Российской Федерации в 2023 г., на присутствие возможных детерминант персистенции. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А.Овчинникова. 2024;20(2):61-67.
24. Pennella MA, Giedroc DP. Structural determinants of metal selectivity in prokaryotic metal-responsive transcriptional regulators. Biometals. 2005 Aug;18(4):413-28. DOI: 10.1007/s10534-005-3716-8
25. Xu C, Rosen BP. Metalloregulation of Soft Metal Resistance Pumps. In: Sarkar B. (eds). Metals and Genetics. Plenum Press, New York, 1999;5-19. DOI: 10.1007/978-1-4615-4723-5_2
26. Osman D, Cavet JS. Bacterial metal-sensing proteins exemplified by ArsR-SmtB family repressors. Nat Prod Rep. 2010 May;27(5):668-80. DOI: 10.1039/b906682a
27. Bueno E, Pinedo V, Shinde DD, Mateus A, Typas A, Savitski MM, et al. Transient Glycolytic Complexation of Arsenate Enhances Resistance in the Enteropathogen *Vibrio cholerae*. mBio. 2022 Oct 26;13(5): e0165422. DOI: 10.1128/mbio.01654-22

References

1. Evteev AV, Vodopyanov SO. Genetic Determinants of Heavy Metal Resistance and Its Relationship with Antimicrobial Resistance in Microorganisms, Including Bacteria of the Genus *Vibrio*. Bacteriology. 2024;9(3):97-104. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-3-97-104 (In Russian).
2. Wuana RA, Okieimen FE. Heavy Metals in Contaminated Soils: A Review of Sources, Chemistry, Risks and Best Available Strategies for Remediation. ISRN Ecology. 2011;1-20.
3. Song Y, Yu P, Li B, Pan Y, Zhang X, Cong J, et al. The mosaic accessory gene structures of the SXT/R391-like integrative and conjugative elements derived from *Vibrio* spp. isolated from aquatic products and environment in the Yangtze River Estuary, China. BMC Microbiol. 2013 Sep 30;13:214. DOI: 10.1186/1471-2180-13-214
4. Pal C, Bengtsson-Palme J, Rensing C, Kristiansson E, Larsson DG. BacMet: antibacterial biocide and metal resistance genes database. Nucleic Acids Res. 2014 Jan;42(Database issue):D737-43. doi: 10.1093/nar/gkt1252

5. Feldgarden M, Brover V, Gonzalez-Escalona N, Frye JG, Haendiges J, Haft DH, et al. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Sci Rep*. 2021 Jun 16;11(1):12728. DOI: 10.1038/s41598-021-91456-0
6. Xu M, Wu J, Chen L. Virulence, antimicrobial and heavy metal tolerance, and genetic diversity of *Vibrio cholerae* recovered from commonly consumed freshwater fish. *Environ Sci Pollut Res Int*. 2019 Sep;26(26):27338-27352. DOI: 10.1007/s11356-019-05287-8
7. Fu H, Yu P, Liang W, Kan B, Peng X, Chen L. Virulence, Resistance, and Genomic Fingerprint Traits of *Vibrio cholerae* Isolated from 12 Species of Aquatic Products in Shanghai, China. *Microb Drug Resist*. 2020 Dec;26(12):1526-1539. DOI: 10.1089/mdr.2020.0269
8. Monakhova EV, Arkhangel'skaya IV. Cholera vibrios of nonO1/nonO139 serogroups in etiology of acute intestinal infections: current situation in Russia and around the world. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2016;2:14-23. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-2-14-23 (In Russian).
9. Noskov AK, Kruglikov VD, Moskvitina EA, Monakhova EV, Levchenko DA, Yanovich EG, et al. Characteristics of the epidemiological situation on cholera in the world and in the Russian Federation in 2020 and forecast for 2021. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2021;1:43-51. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-1-43-51 (In Russian).
10. Borodina OV, Vodopyanov SO, Vodopyanov AS, Oleynikov IP, Chemisova OS, Poleeva MV. Study of the occurrence of the cold shock gene *csH1* in *Vibrio cholerae* strains circulating in the territory of the Russian Federation. *Bacteriology*. 2021;6(3):22-23. (In Russian).
11. Saha RP, Samanta S, Patra S, Sarkar D, Saha A, Singh MK. Metal homeostasis in bacteria: the role of ArsR-SmtB family of transcriptional repressors in combating varying metal concentrations in the environment. *Biometals*. 2017 Aug;30(4):459-503. DOI: 10.1007/s10534-017-0020-3
12. Nesler A, DalCorso G, Fasani E, Manara A, Di Sansebastiano GP, Argese E, et al. Functional components of the bacterial CzcCBA efflux system reduce cadmium uptake and accumulation in transgenic tobacco plants. *N Biotechnol*. 2017 Mar 25;35:54-61. DOI: 10.1016/j.nbt.2016.11.006
13. Rensing C, Pribyl T, Nies DH. New functions for the three subunits of the CzcCBA cation-proton antiporter. *J Bacteriol*. 1997 Nov;179(22):6871-9. DOI: 10.1128/jb.179.22.6871-6879.1997
14. Nies DH. The cobalt, zinc, and cadmium efflux system CzcABC from *Alcaligenes eutrophus* functions as a cation-proton antiporter in *Escherichia coli*. *J Bacteriol*. 1995 May;177(10):2707-12. DOI: 10.1128/jb.177.10.2707-2712.1995
15. Kim EH, Nies DH, McEvoy MM, Rensing C. Switch or funnel: how RND-type transport systems control periplasmic metal homeostasis. *J Bacteriol*. 2011 May;193(10):2381-7. DOI: 10.1128/JB.01323-10
16. Janssen PJ, Van Houdt R, Moors H, Monsieurs P, Morin N, Michaux A, et al. The complete genome sequence of *Cupriavidus metallidurans* strain CH34, a master survivalist in harsh and anthropogenic environments. *PLoS One*. 2010 May 5;5(5):e10433. DOI: 10.1371/journal.pone.0010433
17. Costa WF, Giambiagi-deMarval M, Laport MS. Antibiotic and Heavy Metal Susceptibility of Non-Cholera *Vibrio* Isolated from Marine Sponges and Sea Urchins: Could They Pose a Potential Risk to Public Health? *Antibiotics (Basel)*. 2021 Dec 20;10(12):1561. DOI: 10.3390/antibiotics10121561
18. Su J, Zhang Y, Hu T, Ming H, Xie Y, Jin Y, et al. Prevalence, antibiotic and heavy metal resistance of *Vibrio* spp. isolated from the clam *Meretrix meretrix* at different ages in Geligang, Liaohe estuary in China. *Frontiers in Marine Science*. 2022;9:1071371. DOI: 10.3389/fmars.2022.1071371
19. Siamalube B, Ehinmitan E. *Vibrio cholerae*: Understanding a persistent pathogen in Sub-Saharan Africa and the East Mediterranean Region. *Pathog Dis*. 2025 Jan 30;83:ftaf004. DOI: 10.1093/femspd/ftaf004
20. Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol*. 2012 May;19(5):455-77. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
21. Certificate of State Registration of Computer Program No 2017613695 Russian Federation. SeqAnalyzer – software for analyzing the results of whole-genome sequencing of *Vibrio cholerae*, determining the multiplicity of variable tandem repeats (VNTR) and identifying INDEL markers: No. 2016662799: declared. 24.11.2016: published. 24.03.2017. Vodopyanov AS, Vodopyanov SO, Pisanov RV, et al.; applicant Federal State Institution of Healthcare "Rostov-on-Don Order of the Red Banner of Labor Anti-Plague Research Institute" of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing.
22. Bhattacharjee H, Rosen BP. Arsenic metabolism in prokaryotic and eukaryotic microbes. In: Nies DH, Silver S, editors. *Molecular Microbiology of Heavy Metals*. Heidelberg, New York: Springer-Verlag; 2007;371-406.
23. Vodopyanov SO, Evteev AV, Gerasimenko AA, Vodopyanov AS, Ezhova MI, Menshikova EA, et al. Analysis of *V. cholerae* O1 EL TOR strains isolated on the territory of the Russian Federation in 2023 for the presence of possible determinants of persistence. *Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology n.a. Yu.A.Ovchinnikov*. 2024;20(2):61-67. (In Russian).
24. Pennella MA, Giedroc DP. Structural determinants of metal selectivity in prokaryotic metal-responsive transcriptional regulators. *Biometals*. 2005 Aug;18(4):413-28. DOI: 10.1007/s10534-005-3716-8
25. Xu C, Rosen BP. Metalloregulation of Soft Metal Resistance Pumps. In: Sarkar B. (eds). *Metals and Genetics*. Plenum Press, New York, 1999;5-19. DOI: 10.1007/978-1-4615-4723-5_2
26. Osman D, Cavet JS. Bacterial metal-sensing proteins exemplified by ArsR-SmtB family repressors. *Nat Prod Rep*. 2010 May;27(5):668-80. DOI: 10.1039/b906682a
27. Bueno E, Pinedo V, Shinde DD, Mateus A, Typas A, Savitski MM, et al. Transient Glycolytic Complexation of Arsenate Enhances Resistance in the Enteropathogen *Vibrio cholerae*. *mBio*. 2022 Oct 26;13(5): e0165422. DOI: 10.1128/mbio.01654-22

Информация о соавторах:

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

Водопьянов Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-9056-3231

Писанов Руслан Вячеславович, кандидат биологических наук, и.о. заведующего лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-7178-8021

Information about co-authors:

Sergey O. Vodopyanov, MD, PhD, DSc, Chief Researcher of the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections of the Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rosпотребнадзор

Aleksey S. Vodopyanov, MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biology of Natural Focal and Zoonotic Infections of the Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0002-9056-3231

Ruslan V. Pisanov, PhD in Biological Sciences, Acting Head of the Laboratory of Molecular Biology of Natural Focal and Zoonotic Infections of the Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0002-7178-8021

Оценка влияния комплексного дисбиоза на исход экстракорпорального оплодотворения на модели лабораторных животных

З.Р.Хасаншина^{1,2}, Н.В.Богачёва²

¹ООО «Медицинский центр «За Рождение», Киров, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, Киров, Российская Федерация

Бесплодие – глобальная медико-социальная проблема современности, которая затрагивает каждую шестую пару в мире. Экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО) является одним из методов преодоления проблемы бесплодия. На исход ЭКО оказывает влияние множество факторов, среди которых особое место занимает изменения в микробиоме влагалища и кишечника.

Целью работы являлась оценка влияния комплексного дисбиоза на возможный исход ЭКО с использованием модели лабораторных животных.

Для создания комплексного дисбиоза использовали антибиотик цефтриаксон, который вводили самкам крыс линии Wistar внутрибрюшинно в течение 10 дней. Всем животным в экспериментальной (на следующий день после завершения введения цефтриаксона) и контрольной группах проводили гормональную стимуляцию препаратами Фоллимаг и гонадотропин хорионический. До и на 3-й день после окончания введения цефтриаксона отбирали биологический материал из влагалища и кишечника животных. Полученные данные продемонстрировали, что на фоне введения цефтриаксона произошло статистически не значимое снижение количества большей части выделенных микроорганизмов во влагалище и достоверное снижение более чем на 10 КОЕ/г ($p < 0,05$) основных представителей микрофлоры кишечника (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Morganella morganii*, *Escherichia coli*). В кишечнике и влагалище после создания состояния дисбиоза были выделены и идентифицированы *Candida* spp., только в кишечнике – *E. coli* лактозонегативная, при их отсутствии до назначения антимикробного препарата. Оценку исхода ЭКО на фоне состояния комплексного дисбиоза, смоделированного в организме крыс, осуществляли по анализу овариального резерва и репродуктивной способности животных. Результаты показали, что состояние дисбиоза оказывает существенное влияние на количественные характеристики ооцитов. Оценка репродуктивного потенциала самок крыс с комплексным дисбиозом показала, что при спаривании их с самцами происходит снижение количества потомства в 1,3 раза по сравнению с животными без состояния дисбиоза.

Результаты проведенного исследования продемонстрировали важность мониторинга состояния микробиоты не только отдельно взятого биотопа, но и комплексного дисбиоза влагалища и кишечника для лучшего понимания формирующихся процессов и основных механизмов патогенеза репродуктивных изменений на фоне дисбиотических состояний для последующей разработки персонализированных стратегий в борьбе с бесплодием.

Ключевые слова: микробиом влагалища и кишечника, комплексный дисбиоз, бесплодие, экстракорпоральное оплодотворение, фертильность, репродуктивный потенциал

Для цитирования: Хасаншина З.Р., Богачева Н.В. Оценка влияния комплексного дисбиоза на исход экстракорпорального оплодотворения на модели лабораторных животных. Бактериология. 2026; 11(1): 26–33. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-26-33

Evaluation of the effect of complex dysbiosis on the outcome of *in vitro* fertilization in laboratory animal models

Z.R.Khasanshina^{1,2}, N.V.Bogacheva²

¹LLC «Meditsinski tsentr «Za Rozhdenie», Kirov, Russian Federation;

²Kirov State Medical University, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Kirov, Russian Federation

Infertility is a global medical and social problem of our time that affects one in six couples in the world. In vitro fertilization (IVF) is one method of overcoming the problem of infertility. The outcome of IVF is influenced by many factors, among which changes in the microbiome of the vagina and intestines occupy a special place.

Для корреспонденции:

Хасаншина Зулейха Рамилевна, соискатель кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, эмбриолог ООО «Медицинский центр «За Рождение»

Адрес: 610027, Киров, ул. Владимирская, 112
Телефон: (8332) 25-5300
ORCID: 0000-0002-1390-3204

Статья поступила 13.10.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Zuleikha R. Khasanshina, PhD Applicant of the Department of Microbiology and Virology of the Kirov State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Embryologist, LLC «Meditsinski tsentr «Za Rozhdenie»

Address: 112 Vladimirskaia str., Kirov, 610027, Russian Federation
Phone: (8332) 25-5300
ORCID: 0000-0002-1390-3204

The article was received 13.10.2025, accepted for publication 30.03.2026

The aim of the work was to assess the impact of complex dysbiosis on the possible outcome of IVF using a laboratory animal model.

To create complex dysbiosis, the antibiotic ceftriaxone was used, which was administered to female WISTAR rats intraperitoneally for 10 days. All animals in the experimental (the day after completion of ceftriaxone administration) and control groups received hormonal stimulation with Follimag and Gonadotropin chorionic. Before and on the third day after the end of ceftriaxone administration, biological material was collected from the vagina and intestines of the animals. The obtained data demonstrated that during the administration of ceftriaxone, there was a statistically insignificant decrease in the number of most isolated microorganisms in the vagina and a significant decrease by more than 1g CFU/g ($p < 0.05$) of the main representatives of intestinal microflora (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Morganella morganii*, *Escherichia coli*). *Candida* spp. was isolated and identified in the intestine and vagina after the creation of the dysbiosis state, only *E. coli* lactose-negative in the intestine, if they were absent before the antimicrobial drug was prescribed. The outcome of IVF against the background of the state of complex dysbiosis modeled in the body of WISTAR rats was assessed by analyzing the ovarian reserve and reproductive capacity of animals. The results showed that the dysbiosis state has a significant effect on the quantitative characteristics of oocytes. Evaluation of the reproductive potential of female rats with complex dysbiosis showed that when they are mated with males, there is a decrease in the number of offspring by 1.3 times compared to animals without dysbiosis.

The results of the study demonstrated the importance of monitoring the state of the microbiota not only of a single biotope, but of complex dysbiosis of the vagina and intestines for a better understanding of the emerging processes and basic mechanisms of the pathogenesis of reproductive changes against the background of dysbiotic conditions for the subsequent development of personalized strategies in the fight against infertility.

Key words: vaginal and intestinal microbiome, complex dysbiosis, infertility, *in vitro* fertilization, fertility, reproductive potential

For citation: Khasanshina Z.R., Bogacheva N.V. Evaluation of the effect of complex dysbiosis on the outcome of *in vitro* fertilization in laboratory animal models. *Bacteriology*. 2026; 11(1): 26–33. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-26-33

Бесплодие является глобальной проблемой, затрагивающей каждую шестую пару в мире и существенно влияющей на физическое, психическое и социальное благополучие людей [1].

Вспомогательные репродуктивные технологии, в т.ч. и экстракорпоральное оплодотворение (ЭКО), представляют собой методы лечения бесплодия, при применении которых отдельные или все этапы зачатия и раннего развития эмбрионов осуществляются вне материнского организма, в т.ч. с использованием донорских и/или криоконсервированных половых клеток, тканей репродуктивных органов и эмбрионов, а также суррогатного материнства [2].

Женское бесплодие можно разделить на первичное (неспособность забеременеть после 6 (в возрасте до 35 лет) или 12 мес. (в возрасте старше 35 лет) регулярных незащищенных половых контактов) и вторичное (трудности с достижением новой беременности после предыдущей) [3, 4].

Это две отдельные клинические категории с различными этиологическими факторами. Первичное бесплодие связано с анатомическими или генетическими аномалиями, такими как непроходимость маточных труб или хромосомные нарушения, в то время как вторичное бесплодие чаще связано с такими факторами, как инфекции или изменения в микробиоте влагалища, которые могут привести к таким состояниям, как бактериальный вагиноз или воспалительные заболевания органов малого таза. Хотя гормональные, анатомические и генетические факторы широко изучались в качестве основных причин бесплодия, в последние годы растет интерес к анализу роли микробиоты влагалища в репродуктивном здоровье женщины [5].

Вагинальная микробиота, у здоровых женщин состоящая преимущественно из видов *Lactobacillus*, необходима для поддержания кислой среды и защиты от колонизации репродуктивного тракта условно-патогенными микроорганизмами (УПМ) [3]. Сбалансированная вагинальная микробиота помогает предотвратить бактериальный вагиноз, который может нарушить вагинальную микросреду и отрицательно повлиять на фертильность. Гормональный дисбаланс, анатомиче-

ские аномалии и такие состояния, как синдром поликистозных яичников и эндометриоз, сопровождающие бесплодие, не только напрямую влияют на репродуктивное здоровье женщины, но и участвуют в поддержании состава микрофлоры влагалища [3]. Например, гормональные колебания могут изменить состав микробиоты влагалища, способствуя чрезмерному росту анаэробных бактерий и снижению видов *Lactobacillus* spp. Кроме того, изменения вагинальной микробиоты коррелируют с цитологическими изменениями шейки матки, включая наличие инфекций, вызываемых вирусом папилломы человека, которые широко распространены в определенных группах населения и могут влиять на репродуктивное здоровье [6].

Вагинальный микробиом признан важным фактором защиты от различных бактериальных, грибковых и вирусных патогенов. Кроме того, микробиом влагалища играет важную роль в первичной колонизации новорожденных, что оказывает влияние на иммунитет и развитие нервной системы [7].

В последнее время идут исследования, направленные на установление связи между микробиотой желудочно-кишечного тракта и органами репродуктивной системы. Имеются данные о механизмах влияния микрофлоры кишечника на развитие гинекологических заболеваний. Раскрыта роль нарушений влагалищно-кишечного микробиоценоза в развитии эндометриоза и воспалительных заболеваний органов малого таза [8].

Научные исследования подтверждают влияние дисбактериоза кишечника на количественный и качественный состав микрофлоры урогенитального тракта. Увеличение УПМ до 85% и снижения бифидо- и лактобактерий <70% в кишечнике ассоциированы с повышением содержания УПМ в вагинальном биоптате у пациенток с инфекционно-воспалительными заболеваниями органов малого таза. Такие облигатные анаэробы, как *Fusobacterium*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus* и прочие, обитающие в основном в желудочно-кишечном тракте, рассматриваются в настоящее время как главные патогены и участники ко-инфицирования,

вызывающие инфекционно-воспалительные процессы в репродуктивных органах женщин [9].

Исследования демонстрируют связь между микроорганизмами и снижением вероятности успешной имплантации и наступления беременности. Присутствие определенных бактерий и продуктов их жизнедеятельности может препятствовать эффективной имплантации эмбриона в матку, тем самым снижая вероятность наступления беременности [10].

Однако данных по влиянию комплексного дисбиоза на исход ЭКО как метода решения проблемы бесплодия в настоящее время недостаточно.

С учетом вышеизложенного цель настоящей работы – оценить влияние состояния комплексного дисбиоза влагалища и кишечника на исход ЭКО на модели лабораторных животных.

Материалы и методы

В экспериментальной работе использовали крыс линии WISTAR обоего пола в возрасте 3 мес. и массой 290 ± 20 г: 12 самок и 2 самца. Самок разделили на 2 группы по 6 особей в каждой: 1-я группа – контрольная, без состояния комплексного дисбиоза, 2-я группа – экспериментальная, с состоянием комплексного дисбиоза.

Животные были получены из питомника ООО «СМК СТЕЗАР» (г. Владимир). Все эксперименты были проведены в соответствии с директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза по охране животных, используемых в научных целях, «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными приказом Минздрава России №708н от 23.08.2010. Проведение эксперимента одобрено локально-этическим комитетом ФГБОУ ВО «Кировский ГМУ» Минздрава России (протокол №16/2022 от 24 октября 2022 г.).

Для точности проведения эксперимента с целью исключения мужского фактора бесплодия у самцов проводили отбор особей с одинаковой средней концентрацией сперматозоидов в эякуляте. Для получения эякулята использовали «Электростимулятор ректальный для получения эякулята у животных» [11]. Подсчет средней концентрации сперматозоидов в 1 мл эякулята проводили при помощи цифрового микроскопа Levenhuk D90LLCD (Китай).

Для создания модели дисбиоза использовали антибиотик цефтриаксон (ПАО «Красфарма», Россия). Для подбора дозы препарата пересчитывали максимальную дозу антибиотика, применяемую у человека, на животное, с учетом поверхности и массы тела животного, а также разницы межвидового метаболизма [12].

Цефтриаксон в объеме 200 мкл, содержащем 100 мг препарата, вводили самкам крыс туберкулиновым шприцом внутримышечно в течение 10 дней. Флакон с цефтриаксоном перед применением разводили в 2 мл 2,0%-го лидокаина, получая содержание в 2 мл 1 г препарата или в 100 мкл 50 мг препарата.

Состав микрофлоры влагалища и кишечника крыс определяли до и на 3-й день после окончания введения цефтриаксона. Биологический материал помещали в пробирки с транспортной средой Эймса (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) и немедленно доставляли на исследование в централизован-

ную клинично-диагностическую лабораторию КОГБУЗ «Кировская областная клиническая больница», г. Киров. Для выделения чистых культур использовали питательные среды (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия). Микробиологическую идентификацию выделенных чистых культур проводили на масс-спектрометре Vitek MS (BioMerieux, Франция).

Для выделения ооцит-кумулясных комплексов использовали гормональную стимуляцию овуляции препаратами Фоллимаг (гонадотропин сыворотки жеребых кобыл, АО «Мосагроген», Россия) и Гонадотропин хорионический (ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия). Концентрацию препаратов рассчитывали в соответствии с инструкциями к препаратам, весом животных и уровнем видового метаболизма. Гормональной стимуляции подвергали животных в обеих группах: контрольной и экспериментальной. В экспериментальной группе гормональную стимуляцию овуляции индуцировали на следующий день после завершения введения цефтриаксона.

Результаты исследования

На первом этапе работы оценили влияние состояния комплексного дисбиоза на состав микрофлоры влагалища и кишечника самок крыс линии WISTAR (рис. 1). Забор материала для определения микрофлоры влагалища и кишечника крыс проводили до и на 3-й день после окончания введения цефтриаксона.

Результаты оценки динамики содержания основных представителей микрофлоры влагалища и кишечника у крыс до и после создания состояния дисбиоза представлены в табл. 1.

Из данных, представленных в табл. 1, следует, что на фоне введения 100 мг цефтриаксона внутримышечно в течение 10 дней произошло снижение количества основных представителей микрофлоры влагалища (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *Enterococcus* spp.), за счет фармакокинетической активности цефтриаксона снизилось количество УПМ *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Morganella morganii*, *Escherichia coli*; во влагалище были выделены и идентифицированы представители рода *Candida* spp. в количестве 3,65 (3,30; 3,93) lg КОЕ/тампон, при их отсутствии до назначения антимикробного препарата. Наблюдалась ана-



Рис. 1. Взятие материала из влагалища у самок крыс линии WISTAR.

Fig. 1. Taking material from the vagina of female WISTAR rats.

Таблица 1. Динамика содержания основных представителей микробиоты влагалища и кишечника до и после введения цефтриаксона
 Table 1. Dynamics of the content of the main representatives of the vaginal and intestinal microbiota before and after the administration of ceftriaxone

Представители микробиоты / Microbiota representatives	Среднее значение количества микроорганизмов (Me (25–75%), выделенных / Mean microbial count (Me (25–75%) isolated			
	из биологического материала влагалища крыс (n = 6), lg КОЕ/тампон / from rat vaginal biological material (n = 6), lg CFU/swab		из биологического материала кишечника (фекалий) крыс (n = 6), lg КОЕ/г / from rat intestinal (fecal) biological material (n = 6), /lg CFU/g	
	до введения цефтриаксона / before ceftriaxone administration	после введения цефтриаксона / after ceftriaxone administration	до введения цефтриаксона / before ceftriaxone administration	после введения цефтриаксона / after ceftriaxone administration
<i>Lactobacillus</i> spp.	5,54 (5,23; 5,79)	4,00 (2,48; 4,48)	6,7 (6,57; 6,85)	3,70 (2,25; 4,53)
<i>Bifidobacterium</i> spp.	4,54 (4,30; 4,74)	3,30 (2,25; 3,53)	7,00 (6,93; 7,00)	5,00 (4,67; 5,51)
<i>Enterococcus</i> spp.	4,27 (3,76; 4,87)	3,54 (3,23; 3,72)	4,70 (3,83; 4,87)	3,49 (3,30; 3,70)
<i>Staphylococcus</i> spp.	4,54 (4,30; 4,74)	3,30 (2,25; 3,53)	2,0 (1,63; 2,30)	0
<i>Streptococcus</i> spp.	3,93 (3,70; 4,15)	2,74 (2,57; 2,85)	Н	Н
<i>Morganella morganii</i>	4,74 (4,30; 4,86)	0	Н	Н
<i>Escherichia coli</i>	4,77 (4,43; 4,86)	2,48 (1,50; 2,70)	7,78 (6,99; 7,93)	3,41 (3,30; 3,58)
<i>Escherichia coli</i> лактозонегативная	Н	Н	0	1,90 (1,52; 2,30)
<i>Haemophilus</i> spp.	2,30 (1,96; 2,51)	0	Н	Н
<i>Candida</i> spp.	0	3,65 (3,30; 3,93)	0	5,78 (5,21; 5,92)

логичная картина достоверного снижения более чем на lg КОЕ/г ($p < 0,05$) основных представителей микрофлоры кишечника (*Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp., *E. coli*, *Enterococcus* spp.). Отсутствовал рост УПМ *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp.; также при сформированном состоянии дисбиоза было продемонстрировано появление *E. coli* лактозонегативной в количестве 1,90 (1,52; 2,30) и представителей рода *Candida* spp. в количестве 5,78 (5,21; 5,92) в кишечнике.

Кроме наличия показателей достоверного снижения представителей микрофлоры влагалища и кишечника, о формировании комплексного дисбиоза также свидетельствовали клинические проявления, а именно нарушение стула у животных и снижение массы тела на фоне введения цефтриаксона. В исследуемой группе 60% животных имели кашицеобразный стул, у 40% стул был жидкий.

На фоне созданного состояния комплексного дисбиоза проводили оценку репродуктивной способности крыс линии WISTAR двумя способами: исследуя влияние состояния дисбиоза на овариальный резерв животных и на их репродуктивный потенциал.



Рис. 2. Внешний вид извлеченных яичников и маточных труб у самок крыс WISTAR.
 Fig. 2. Appearance of extracted ovaries and fallopian tubes in WISTAR rats.

Таблица 2. Сравнительная оценка количества ооцитов, выделенных у крыс в контрольной и экспериментальной группах
 Table 2. Comparative evaluation of the number of oocytes isolated from rats in the control and experimental groups

№	Группа / Group	Количество ооцит-кумулюсных комплексов / Number of oocyte-cumulus complexes	Среднее количество клеток / Mean cell count
1	Контрольная (животные без дисбиоза), n = 3 / Control (non-dysbiotic animals), n = 3	24, 23, 26	24,3
2	Экспериментальная (животные с дисбиозом), n = 3 / Experimental (dysbiosis animals), n = 3	22, 20, 19	20,3

Всем самкам в контрольной и экспериментальной группах проводили гормональную стимуляцию суперовуляции препаратами Фоллимаг и Гонадотропин хорионический. Препараты, согласно рассчитанным дозам, разводили стерильной водой для инъекций. Далее животным внутрибрюшинно вводили 90 МЕ препарата Фоллимаг в объеме 0,18 мл и размещали в отдельные клетки со стандартными условиями пребывания, едой и водой. Через 48 ч после введения первого препарата внутрибрюшинно вводили 90 МЕ препарата Гонадотропин хорионический в таком же объеме. По истечении 24 ч после введения последнего препарата 3 самки из каждой исследуемой группы были подвергнуты эвтаназии при помощи медицинского эфира с последующим извлечением яичников и маточных труб (рис. 2).

Далее была проведена сравнительная оценка количества ооцитов, выделенных у крыс в контрольной и экспериментальной группах (табл. 2).

Согласно полученным данным, в экспериментальной группе животных с созданной моделью комплексного дис-

Таблица 3. Количественные показатели влияния комплексного дисбиоза на репродуктивную функцию
 Table 3. Quantitative indicators of the effect of complex dysbiosis on reproductive function

Группа / Group	Количество потомства / Number of offspring	Вес при рождении, г / Birth weight, g	Вес в динамике через месяц, г / Monthly weight, g
Контрольная (особи без дисбиоза), n = 3 / Control (non-dysbiotic), n = 3	17; 14; 16 X _{ср} = 15,7	7,0; 8,1; 6,8 X _{ср} = 7,3	60,1; 52,0; 48,5 X _{ср} = 53,5
Экспериментальная (особи с дисбиозом), n = 3 / Experimental (dysbiotic), n = 3	10; 15; 12 X _{ср} = 12,3	7,3; 6,6; 6,3 X _{ср} = 6,7	47,5; 49,1; 52,7 X _{ср} = 47,8

биоза среднее количество выделенных ооцит-кумулюсных комплексов было в 1,2 раза меньше в сравнении с контрольной группой.

В ходе оценки морфологии ооцитов в контрольной и экспериментальной группах не было выявлено существенных различий качественных характеристик половых клеток.

Из полученных данных следует, что изменения микрофлоры влагалища крыс оказывают существенное влияние на количественные характеристики половых клеток животных, что подтверждается снижением количества полученных ооцит-кумулюсных комплексов у животных с комплексным дисбиозом влагалища и кишечника в сравнении с контрольной группой.

Для оценки влияния комплексного дисбиоза на репродуктивный потенциал использовали 6 самок крыс линии WISTAR: животные с нормальной микрофлорой влагалища (контрольная группа) и с комплексным дисбиозом, созданным под действием цефтриаксона (экспериментальная группа).

Все самки крыс были спарены с половозрелыми самцами со средней концентрацией сперматозоидов $8,82 \pm 0,2$ млн клеток в 1 мл эякулята. После спаривания вплоть до родов самок содержали отдельно друг от друга в стандартных условиях при температуре 19–25°C и относительной влажности воздуха 30–70%. Далее после родов проводили оценку состояния потомства (табл. 3). Количественные показатели влияния комплексного дисбиоза на репродуктивную функцию представлены в табл. 3.

Из данных, представленных в табл. 2, установлено, что в экспериментальной группе количество потомства было в 1,3 раза меньше по сравнению с контрольной группой. При оценке веса установлены незначимые различия в контрольной и экспериментальной группах у потомства при рождении и в динамике через месяц.

Обсуждение

В настоящее время, несмотря на активное изучение роли микробиома влагалища в репродукции и вспомогательных репродуктивных технологиях, многие вопросы до сих пор остаются без ответа [13]. Имеются отдельные работы, подтверждающие роль микробиоты кишечника в репродуктивном потенциале женщины. Однако данные по комплексному влиянию дисбиоза кишечника и влагалища на исход ЭКО практически отсутствуют, что объясняет актуальность изучения данного вопроса.

В ходе работы проанализировали динамику изменения микрофлоры влагалища и кишечника самок крыс линии WISTAR на фоне состояния комплексного дисбиоза. В результате введения Цефтриаксона произошло значимое

изменение состояния микробиоты влагалища и кишечника животных, а именно медиана количества *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. уменьшилась в 1,4–1,8 раза. Полученные данные продемонстрировали, что на фоне индуцированного состояния комплексного дисбиоза достоверно изменилось содержание выделенных УПМ: *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *M. morgani*, *E. coli*, *Haemophilus* spp.

На фоне комплексного дисбиоза недостоверно изменилось и содержание выделенных УПМ. Динамика снижения количества основных представителей микробиоты с формированием комплексного дисбиоза в биотопах влагалища и кишечника согласуется с данными, представленными в работе [14].

Исследование взаимосвязи дисбиоза влагалища и кишечника животных с фертильностью проводили путем оценки овариального резерва и репродуктивного потенциала самок крыс линии WISTAR.

В результате было установлено, что состояние дисбиоза оказывает существенное влияние на количество получаемых ооцит-кумулюсных комплексов: среднее количество полученных половых клеток в контрольной группе достигало 24,3, что в 1,2 раза больше в сравнении с экспериментальной группой. Касательно морфологической оценки ооцитов в контрольной и экспериментальной группах не было выявлено существенных различий качественных характеристик половых клеток. Полученные данные коррелируют с уже имеющимися данными других авторов, утверждающих, что нарушение микробиоты влияет не только на количественный составляющую оогенеза, но и на сам процесс оплодотворения ооцитов [14].

В ходе работы также было установлено, что нарушения микробиоты влагалища и кишечника в комплексе способны влиять на репродуктивный потенциал животных посредством снижения количества потомства. Так, в ходе исследования было выявлено, что у самок крыс с дисбиозом количество потомства в 1,3 раза меньше в сравнении с контрольной группой животных. При этом следует отметить, что различия в весе потомства при рождении и в динамике через месяц были незначительными. Полученные данные продемонстрировали согласованность с работами других авторов [15].

В ходе работы также был проведен анализ статистической закономерности между изменением количества микроорганизмов на фоне состояния комплексного дисбиоза с овариальной и репродуктивной способностями животных. В табл. 4 представлена оценка согласованности между разницей количества представителей микробиоты влагалища до и после введения цефтриаксона, количеством ооцитов и потомства у животных в экспериментальной группе.

Таблица 4. Оценка статистической согласованности между разницей количества представителей микробиоты влагалища до и после введения цефтриаксона, количеством ооцитов и потомства у животных в экспериментальной группе
Table 4. Evaluation of statistical consistency between the difference in the number of vaginal microbiota representatives before and after ceftriaxone administration, the number of oocytes and offspring in animals in the experimental group

Представители микробиоты / <i>Microbiota representatives</i>	Согласованность (<i>p</i>) между разницей микроорганизмов до и после введения цефтриаксона с / <i>Concordance (p) between microbial difference before and after ceftriaxone administration with</i>	
	количеством ооцитов / <i>oocyte count</i>	количеством потомства / <i>the number of offspring</i>
<i>Lactobacillus</i> spp.	0,124	0,463
<i>Bifidobacterium</i> spp.	0,143	0,319
<i>Enterococcus</i> spp.	0,216	0,156
<i>Staphylococcus</i> spp.	0,143	0,024
<i>Streptococcus</i> spp.	0,210	0,238
<i>Morganella morganii</i>	0,084	0,072
<i>Escherichia coli</i>	-0,190	-0,180
<i>Haemophilus</i> spp.	-0,419	-0,563
<i>Candida</i> spp.	-0,578	-0,482

r – ранговый коэффициент корреляции Спирмена; значения, выделенные жирным, имеют определенный уровень согласованности.
r – Spearman's rank correlation coefficient; values in bold have a certain level of consistency.

Таблица 5. Оценка статистической согласованности между разницей количества представителей микробиоты кишечника до и после введения цефтриаксона, количеством ооцитов и потомства у животных в экспериментальной группе
Table 5. Evaluation of statistical consistency between the difference in the number of representatives of the intestinal microbiota before and after ceftriaxone administration, the number of oocytes and offspring in animals in the experimental group

Представители микробиоты / <i>Microbiota representatives</i>	Согласованность (<i>p</i>) между разницей микроорганизмов до и после введения цефтриаксона с / <i>Concordance (p) between microbial difference before and after ceftriaxone administration with</i>	
	количеством ооцитов / <i>oocyte count</i>	количеством потомства / <i>the number of offspring</i>
<i>Lactobacillus</i> spp.	0,155	0,399
<i>Bifidobacterium</i> spp.	0,299	0,695
<i>Enterococcus</i> spp.	0,024	-0,429
<i>Staphylococcus</i> spp.	0,264	0,103
<i>Streptococcus</i> spp.	не обнаружен	не обнаружен
<i>Morganella morganii</i>	не обнаружен	не обнаружен
<i>Escherichia coli</i>	-0,381	-0,833
<i>Haemophilus</i> spp.	не обнаружен	не обнаружен
<i>Candida</i> spp.	-0,524	-0,429
<i>Escherichia</i> лактозонегативная	-0,578	-0,482

r – ранговый коэффициент корреляции Спирмена; значения, выделенные жирным, имеют определенный уровень согласованности.
r – Spearman's rank correlation coefficient; values in bold have a certain level of consistency.

Согласно данным, представленным в табл. 4, наблюдается незначимая прямая согласованность между количеством представителей *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. и количеством потомства в экспериментальной группе животных. Полученные результаты указывают на то, что при увеличении количества представителей *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. будет получено большее количество потомства у животных с дисбиозом и наоборот – при снижении количества потомства может быть меньше.

Обратная незначимая согласованность была установлена между количеством микроорганизмов *Haemophilus* spp., *Candida* spp. и количеством ооцитов и потомства. Так, повышение концентрации вышеуказанных микроорганизмов во влагалище приводит к снижению количества потомства и уменьшению числа ооцитов, формирующихся в яйцниках. Напротив, снижение концентрации данных микроорганизмов приводит к увеличению как количества ооцитов, так и потомства.

Аналогичным образом была проведена оценка согласованности между разницей количества представителей микробиоты кишечника до и после введения цефтриаксона, количеством ооцитов и потомства у животных в экспериментальной группе.

Согласно результатам, представленным в табл. 5, установлено, что между количеством представителей *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. и количеством потомства в экспериментальной группе животных наблюдается незначимая прямая согласованность. Это указывает на то, что с увеличением количества представителей *Lactobacillus* spp. и *Bifidobacterium* spp. будет получено большее количество потомства у животных.

Между количеством микроорганизмов *Enterococcus* spp., *E. coli*, *Candida* spp и *Escherichia* лактозонегативная была установлена обратная незначимая согласованность. Это указывает на то, что увеличение количества содержания данных микроорганизмов в кишечнике приводит к снижению количества ооцитов и уменьшению количества потомства.

Полученные данные ранее были продемонстрированы авторами, которые в своем ретроспективном исследовании показали, как контаминация ооцитов и эмбрионов в циклах ЭКО с высокой вероятностью приводит к их дегенерации, снижению частоты оплодотворения и образования blastocyst. Так, авторы определили, что контаминация такими микроорганизмами, как *E. coli*, *Enterococcus faecalis* и *Klebsiella pneumoniae*, значительно снижает частоту оплодотворения, сказывается на скорости дробления зигот, а также увеличивает риск выкидышей на ранних стадиях, а загрязнение *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus mitis* и *Proteus mirabilis* значительно снижает частоту формирования качественных blastocyst [16, 17].

Заключение

Любое нарушение баланса микробиома человека может влиять на работу организма, изменять его функцию, вызывать инфекции и другие заболевания.

По результатам работы на лабораторной модели животных было установлено, что состояние комплексного дисбиоза влияет на овариальный резерв посредством снижения

количества ооцитов. Кроме того, нарушение микрофлоры также оказывает влияние на репродуктивный потенциал, которое демонстрируется уменьшением доли имплантированных эмбрионов.

Результаты проведенного нами исследования продемонстрировали важность мониторинга состояния микробиоты не только отдельно взятого биотопа, но и комплексного дисбиоза влагалища и кишечника для лучшего понимания формирующихся процессов и основных механизмов патогенеза репродуктивных изменений на фоне дисбиотических состояний для последующей разработки персонализированных стратегий в борьбе с бесплодием.

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. ВОЗ: бесплодием страдает каждый шестой человек в мире [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.who.int/ru/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility> (дата обращения: 15.02.2026).
2. Федеральный закон от 21.11.2011 №323-ФЗ (ред. от 26.03.2022) «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации».
3. ESHRE Capri Workshop Group. A prognosis-based approach to infertility: understanding the role of time. Hum Reprod. 2017 Aug 1;32(8):1556-1559. DOI: 10.1093/humrep/dex214
4. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. Clin Biochem. 2018 Dec;62:2-10. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012
5. Bernabeu A, Lledo B, Díaz MC, Lozano FM, Ruiz V, Fuentes A, et al. Effect of the vaginal microbiome on the pregnancy rate in women receiving assisted reproductive treatment. J Assist Reprod Genet. 2019 Oct;36(10):2111-2119. DOI: 10.1007/s10815-019-01564-0
6. García-Velasco JA, Menabrito M, Catalán IB. What fertility specialists should know about the vaginal microbiome: a review. Reprod Biomed Online. 2017 Jul;35(1):103-112. DOI: 10.1016/j.rbmo.2017.04.005
7. Jeong S. Factors influencing development of the infant microbiota: from prenatal period to early infancy. Clin Exp Pediatr. 2022 Sep;65(9):439-447. DOI: 10.3345/cep.2021.00955
8. Купина АД, Петров ЮА, Оздоева ИМ. Кишечный и влагалищный микробиоценоз и его влияние на репродуктивное здоровье женщины. Доктор.Ру. 2021;20(1):73-77. DOI: 10.31550/1727-2378-2021-20-1-73-77

9. Турсунова НБ, Лебедева ОП, Алтухова ОБ, Нагорный АВ. Современный взгляд на роль микробиома женского репродуктивного тракта в исходах ЭКО. Гинекология и репродукция. 2023;17(4):512-525. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.433
10. Pelzer ES, Allan JA, Theodoropoulos C, Ross T, Beagley KW, Knox CL. Hormone-dependent bacterial growth, persistence and biofilm formation – a pilot study investigating human follicular fluid collected during IVF cycles. PLoS One. 2012;7(12):e49965. DOI: 10.1371/journal.pone.0049965
11. Патент на полезную модель №230453 U1 Российская Федерация, МПК А61D 19/00. Электростимулятор ректальный для эякуляции у животных: №2024119277: заявл. 10.07.2024: опубл. 04.12.2024. Богачева НВ, Богачев НН, Дунаева ЕБ, Хасаншина ЗР, Козвонин ВА; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России.
12. Патент №2844630 С1 Российская Федерация, МПК А61К 31/545, А61Р 43/00, G09В 23/28. Способ расчета дозы цефтриаксона для разработки модели комплексного дисбиоза на крысах линии WESTAR: заявл. 22.07.2024: опубл. 04.08.2025. Богачева НВ, Хасаншина ЗР, Смертина МЛ, Дунаева ЕБ, Скочилова ВИ; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России.
13. Zhao F, Hu X, Ying C. Advances in Research on the Relationship between Vaginal Microbiota and Adverse Pregnancy Outcomes and Gynecological Diseases. Microorganisms. 2023 Apr 11;11(4):991. DOI: 10.3390/microorganisms11040991
14. Николаева АВ, Козлова АА, Баранов ИИ, Припутневич ТВ. Современные представления о взаимосвязи кишечной и вагинальной микробиот. Акушерство и гинекология. 2021;9:5-11. DOI: 10.18565/aig.2021.9.5-11
15. Ralph SG, Rutherford AJ, Wilson JD. Influence of bacterial vaginosis on conception and miscarriage in the first trimester: cohort study. BMJ. 1999;319(7204):220-223.
16. He Y, Mao Y, Chen Y, Tang L, Hou H, Sun C, et al. Effects of Embryo Microbial Contamination on ART and Neonatal Outcomes. Infect Drug Resist. 2024 Sep 23;17:4137-4148. DOI: 10.2147/IDR.S478594
17. Singh S, Nair N, More A, Vishwakarma N, Kalbande A. Microbiological contamination in IVF laboratories: A narrative review. Asian Pacific Journal of Reproduction. 2025;14(1):7-12. DOI: 10.4103/apjr.apjr_168_24

References

1. WHO: One in six people worldwide suffers from infertility [Electronic resource]. URL: <https://www.who.int/ru/news/item/04-04-2023-1-in-6-people-globally-affected-by-infertility> (accessed 15.02.2026). (In Russian).
2. Federal Law of 21.11.2011 No 323-F3 (as amended by 26.03.2022) "On the Basics of Health Protection of Citizens in the Russian Federation". (In Russian).
3. ESHRE Capri Workshop Group. A prognosis-based approach to infertility: understanding the role of time. Hum Reprod. 2017 Aug 1;32(8):1556-1559. DOI: 10.1093/humrep/dex214
4. Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. Clin Biochem. 2018 Dec;62:2-10. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012
5. Bernabeu A, Lledo B, Díaz MC, Lozano FM, Ruiz V, Fuentes A, et al. Effect of the vaginal microbiome on the pregnancy rate in women receiving assisted reproductive treatment. J Assist Reprod Genet. 2019 Oct;36(10):2111-2119. DOI: 10.1007/s10815-019-01564-0
6. García-Velasco JA, Menabrito M, Catalán IB. What fertility specialists should know about the vaginal microbiome: a review. Reprod Biomed Online. 2017 Jul;35(1):103-112. DOI: 10.1016/j.rbmo.2017.04.005
7. Jeong S. Factors influencing development of the infant microbiota: from prenatal period to early infancy. Clin Exp Pediatr. 2022 Sep;65(9):439-447. DOI: 10.3345/cep.2021.00955

8. Kupina AD, Petrov YuA, Ozdoeva IM. Enteric and vaginal microbiocenosis and implications for female reproductive health. Doctor.Ru. 2021;20(1):73-77. DOI: 10.31550/1727-2378-2021-20-1-73-77 (In Russian).
9. Tursunova NB, Lebedeva OP, Altukhova OB, Nagorny AV. An updated view on the role of the female reproductive tract microbiome in IVF outcomes. Obstetrics, Gynecology and Reproduction. 2023;17(4):512-525. DOI: 10.17749/2313-7347/ob.gyn.rep.2023.433 (In Russian).
10. Pelzer ES, Allan JA, Theodoropoulos C, Ross T, Beagley KW, Knox CL. Hormone-dependent bacterial growth, persistence and biofilm formation – a pilot study investigating human follicular fluid collected during IVF cycles. PLoS One. 2012;7(12):e49965. DOI: 10.1371/journal.pone.0049965
11. Patent for Utility Model No. 230453 U1 Russian Federation, IPC A61D 19/00. Rectal electrical stimulator for ejaculation in animals: No 2024119277: declared 10.07.2024: published 04.12.2024. Bogacheva NV, Bogachev NN, Dunaeva EB, Khasanshina ZR, Kozvonin VA; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kirov State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation. (In Russian).
12. Patent No. 2844630 C1 Russian Federation, IPC A61K 31/545, A61P 43/00, G09B 23/28. Method for calculating the dose of ceftriaxone for the development of a complex dysbiosis model in WESTAR rats: 22.07.2024: publ. 04.08.2025. Bogacheva NV, Khasanshina ZR, Smertina ML, Dunaeva EB, Skochilova VI; applicant Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kirov State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation. (In Russian).
13. Zhao F, Hu X, Ying C. Advances in Research on the Relationship between Vaginal Microbiota and Adverse Pregnancy Outcomes and Gynecological Diseases. Microorganisms. 2023 Apr 11;11(4):991. DOI: 10.3390/microorganisms11040991
14. Nikolaeva AV, Kozlova AA, Baranov II, Priputnevich TV. Modern ideas about the relationship between the intestinal and vaginal microbiota. Obstetrics and Gynecology. 2021;9:5-11. DOI: 10.18565/aig.2021.9.5-11 (In Russian).
15. Ralph SG, Rutherford AJ, Wilson JD. Influence of bacterial vaginosis on conception and miscarriage in the first trimester: cohort study. BMJ. 1999;319(7204):220-223.
16. He Y, Mao Y, Chen Y, Tang L, Hou H, Sun C, et al. Effects of Embryo Microbial Contamination on ART and Neonatal Outcomes. Infect Drug Resist. 2024 Sep 23;17:4137-4148. DOI: 10.2147/IDR.S478594
17. Singh S, Nair N, More A, Vishwakarma N, Kalbande A. Microbiological contamination in IVF laboratories: A narrative review. Asian Pacific Journal of Reproduction. 2025;14(1):7-12. DOI: 10.4103/apjr.apjr_168_24

Информация о соавторе:

Богачёва Наталья Викторовна, доктор медицинских наук, доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России
ORCID: 0000-0002-7021-6232

Information about co-author:

Natalya V. Bogacheva, MD, PhD, DSc, Associate Professor, Department of Microbiology, Kirov State Medical University
ORCID: 0000-0002-7021-6232

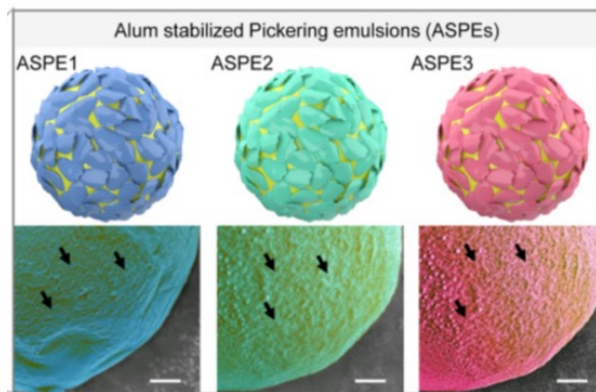
НОВОСТИ НАУКИ

Оптимизация иммунотерапии путем настройки механических свойств одобренных адъювантов

Традиционные адъюванты вакцин в основном опираются на молекулярное связывание и биохимическую стимуляцию для активации иммунных ответов, что часто приводит к ограниченной эффективности у пожилых или низкочувствительных популяций.

Исследовательская группа из Института технологической инженерии (IPE) Китайской академии наук показала, что перепроектирование алюминиевых адъювантов в деформируемый трехмерный механический интерфейс может значительно повысить активацию иммунитета.

Одним из ключевых вызовов в иммунотерапии является усиление иммунных реакций без введения новых молекулярных компонентов, которые могут вызвать регуляторные препятствия. Хотя размер, форма и состав одобренных адъювантов были оптимизированы, их механические свойства остаются недостаточно изученными. В данной работе были переосмыслены одобренные алюминиевые адъюванты (алюм) путем создания алюмостабилизированных эмульсий Пикеринга (ASPEs), чтобы синергизировать механические (PIEZO1) и биохимические (TLR4) сигналы. ASPE, с оптимальной жесткостью межфазного алюминия, способствуют увеличению площади контакта с дендритными клетками (ДК) во время эндоцитоза, передавая локальное напряжение, которое активирует PIEZO1-опосредованную сигнализацию кальций/митоген-активируемая протеинкиназа (MAPK). Это усиливает кросс-презентацию антигенов и Th1-иммунитет. Совместное внесение агониста TLR4 (монофосфорилированный липид A [MPLA]) дополнительно повысило иммуногенность вакцины против вируса ветряной оспы среди старых мышей, превзойдя alum+MPLA (AS04). В терапии ДК, нагруженных антигеном и комбинированной с блокадой PD-1, ДК, обработанные ASPE-M, достигли 2,11-кратного повышения подавления опухоли по сравнению с клиническими подходами на основе лизата опухоли-M. Эти выводы демонстрируют, как настройку межфазных механических свойств одобренных материалов можно использовать для разблокирования механоиммунотерапии с трансляционным потенциалом.



Ming Y, et al.

Drilling dendritic cell activation: Engineering interfacial mechano-biochemical cues for enhanced immunotherapy. Cell Biomaterials 2, 100281 (2026).

Геоинформационная система *Pseudomonas aeruginosa*

А.А.Ковалевич, А.С.Водопьянов, Е.Д.Василенко, Р.В.Писанов

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

Актуальность использования геоинформационных систем в эпидемиологическом надзоре обусловлена их способностью обеспечивать оперативный анализ и визуализацию распространения инфекционных заболеваний, обусловленных в т.ч. устойчивыми к антибиотикам штаммами *Pseudomonas aeruginosa*. Представление данных в геопространственном формате позволяет выявлять закономерности в циркуляции патогенов и повышать точность прогнозирования эпидемиологических рисков.

Цель работы – создание геоинформационной онлайн-системы «ГИС *Pseudomonas aeruginosa*», содержащей данные о генетических свойствах циркулирующих штаммов, для оценки генетического разнообразия представителей вида *P. aeruginosa*.

Материалы и методы. В исследовании использованы полногеномные данные 506 штаммов *P. aeruginosa*, изолированных на территории России и прилегающих регионов. Анализ полногеномных данных проводился с использованием разработанных авторских инструментов Genomes Validator и Pseudomonas Analyser.

Результаты. Разработана онлайн-система «ГИС *Pseudomonas aeruginosa*», которая отображает информацию о выбранном штамме: серогруппа, тип жгутикового антигена, мукоидный фенотип, *ExoU/ExoS*-тип, дата выделения, объект выделения. ГИС расположена на центральном сервере института, что позволяет сотрудникам, имеющим доступ, оперативно получать или пополнять информацию практически из любой точки страны и анализировать эти данные. Анализ данных с использованием разработанной ГИС показал, что на территории России преобладают штаммы с генотипом *exoS*⁺ (88%), тогда как более вирулентные *exoU*⁺ штаммы встречаются значительно реже (~12%). Наибольшее число *exoU*⁺ изолятов зарегистрировано в г. Москве, а также замечен факт их длительной циркуляции.

Заключение. В рамках настоящего исследования впервые разработана геоинформационная система для *P. aeruginosa*, основанная на интеграции данных о генетических маркерах и молекулярных характеристиках штаммов и позволяющая проводить выборку штаммов непосредственно на электронной карте. С помощью «ГИС *Pseudomonas aeruginosa*» продемонстрировано локальное распространение наиболее вирулентных изолятов *exoU*⁺ на территории России, а также региональная специфичность их циркуляции.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, геоинформационная система, серотипы, *exoU*, *exoS*, жгутиковый антиген

Для цитирования: Ковалевич А.А., Водопьянов А.С., Василенко Е.Д., Писанов Р.В. Система *Pseudomonas aeruginosa*. Бактериология. 2026; 11(1): 34–41. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-34-41

Pseudomonas aeruginosa geographic information system

A.A.Kovalevich, A.S.Vodopyanov, E.D.Vasilenko, R.V.Pisanov

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation

The relevance of the use of geoinformation systems in epidemiological surveillance is determined by their ability to provide rapid analysis and visualization of spread of infectious diseases, including antibiotic-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. The geospatial format of data presentation makes it possible to identify patterns in the circulation of pathogens and to improve the accuracy of epidemiological risks forecasting.

The aim of the work is to create an online geographic information system “GIS *Pseudomonas aeruginosa*”, containing data on the genetic properties of circulating strains, to assess the genetic diversity of representatives of the *P. aeruginosa* species.

Materials and methods. The whole genome data from 506 strains of *P. aeruginosa* isolated in Russia and in the neighboring regions were used in the study. The analysis of whole genome data was carried out with the use of the author’s developed tools “Genomes Validator” and “Pseudomonas Analyser”.

Results. The online GIS system “GIS *Pseudomonas aeruginosa*” has been developed, which contains information about the selected strain.: its serogroup, type of flagellar antigen, mucoid phenotype, *ExoU/ExoS* types, date of isolation, object of isolation. GIS is accessed on the central server of the institute, which makes it possible to receive or to update information quickly from almost anywhere in the country, which allows employees with the access to the data to analyze it. Data analysis using the developed GIS revealed that the *exoS*⁺ strains predominate in Russia (88%), while the more virulent *exoU*⁺ strains are much less common (about 12%). The largest number of *exoU*⁺ isolates was registered in Moscow, and the fact of their long-term circulation was also noted.

Для корреспонденции:

Ковалевич Алексей Александрович, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117

Телефон: (863) 240-9133

E-mail: kovalevich_aa@antiplague.ru

ORCID: 0000-0001-6926-0239

Статья поступила 13.10.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Alexey A. Kovalevich, research officer, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute Rosпотребнадзор

Address: 117 M.Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation

Phone: (863) 240-9133

E-mail: kovalevich_aa@antiplague.ru

ORCID: 0000-0001-6926-0239

The article was received 13.10.2025, accepted for publication 30.03.2026

Conclusion. Within the framework of this study, a geoinformation system for *P. aeruginosa* have been developed for the first time. The system is based on integrated data of the genetic markers and molecular characteristics of strains, allowing us to sample strains directly on the electronic map. The geospatial information system has demonstrated the local distribution of the most virulent *exoU*⁺ isolates in Russia and the regional specificity of their circulation.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, geoinformation system, serotypes, *exoU*, *exoS*, flagellated antigen

For citation: Kovalevich A.A., Vodopyanov A.S., Vasilenko E.D., Pisanov R.V. *Pseudomonas aeruginosa* geographic information system. Bacteriology. 2026; 11(1): 34–41. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-34-41

Геоинформационное обеспечение мониторинга за инфекционными болезнями является одним из приоритетных научных направлений Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (Роспотребнадзор) [1]. Это находит отражение во многих информационных системах, направленных на выявление и предупреждение распространения инфекционных болезней на территории Российской Федерации (РФ) [2–4].

В настоящее время использование геоинформационных систем (ГИС) для мониторинга возбудителей природно-очаговых, зоонозных, актуальных антропонозных инфекционных болезней становится обычной практикой [5–7].

Исключительно важное значение при этом имеет внедрение онлайн-технологий, позволяющих обеспечивать оперативный доступ к информации большому количеству специалистов.

По состоянию на 2020 г. штаммы *Pseudomonas aeruginosa* являлись возбудителями нозокомиальных инфекций в 18,6% случаев, что было продемонстрировано с использованием отечественной онлайн-платформы AMRmap, разработанной с использованием ГИС-ресурсов [8].

Синегнойная палочка распространена повсеместно и способна персистировать в разнообразных экологических ареалах, включая речные и морские бассейны, сточные воды, бутилированную воду, а также почвенные массивы [9].

Также установлено, что у пациентов с инфекцией нижних дыхательных путей, ассоциированной с *P. aeruginosa*, риск летального исхода в 2,4 раза выше, а также отмечается наиболее высокая тяжесть течения инфекционного процесса. *P. aeruginosa* относится к числу патогенов с высоким эпидемическим потенциалом и способна в короткие сроки формировать госпитальные штаммы [10]. Так, внутрибольничная микст-инфекция, ассоциированная с *Acinetobacter* spp. и *P. aeruginosa*, составляет 13% от всех бактериальных изолятов [11].

В формировании эпидемически значимых клонов *P. aeruginosa* большое значение имеют такие свойства возбудителя, как высокий адаптивный потенциал, пластичность генома, наличие широкого спектра детерминант патогенности и природной устойчивости к антибактериальным препаратам [12]. ГИС предоставляют возможность визуализировать пространственное распространение микроорганизмов и отслеживать циркуляцию штаммов, различающихся по генетическим маркерам. Основываясь на этих данных, можно своевременно выявлять варианты, демонстрирующие признаки роста эпидемической или клинической значимости, и рассматривать их как потенциально опасные штаммы. Хотя на данный момент интеграция подобных подходов в практику пока не получила широкого распространения, ее внедрение может стать перспективным направлением в

улучшении эпидемиологического контроля и прогнозирования динамики распространения потенциальных патогенов.

Картографирование и пространственный анализ позволяют выявлять тенденции, зависимости и взаимосвязи между инфекционными заболеваниями и факторами, которые нельзя было бы различить, например, при представлении данных в табличном формате.

Динамическая связь между базами данных и картами, реализуемая при помощи ГИС, означает, что обновления данных автоматически отражаются на картах, что может помочь сделать санитарно-противоэпидемические (профилактические) мероприятия более целенаправленными и эффективными. Взаимодействие между базами данных и картами, которое обеспечивается ГИС, позволяет автоматически обновлять информацию на картах. Это может способствовать более точному и результативному проведению санитарно-противоэпидемических мероприятий.

В свою очередь, это делает возможным отслеживание наиболее значимых клинических изолятов *P. aeruginosa*.

Поэтому целью исследования является создание геоинформационной онлайн-системы «ГИС *Pseudomonas aeruginosa*», содержащей данные о генетических свойствах циркулирующих штаммов, для оценки генетического разнообразия представителей вида *P. aeruginosa*.

Материалы и методы

Для разработки ГИС использовали геномы и информацию о 506 штаммов *P. aeruginosa*. Из них данные о 37 штаммах были получены лично авторами на базе лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора. Штаммы были выделены в г. Ростове-на-Дону, в Донецкой Народной Республике (ДНР) РФ и г. Хабаровске в период с 2022 по 2025 г. Полногеномное секвенирование проведено в ходе реализации федерального проекта социально-экономического развития РФ до 2030 г. «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)». Из международной базы NCBI были использованы геномы и информация о 442 штаммов *P. aeruginosa* выделенных на территориях, граничащих с РФ, а также информация о 27 штаммах, полученных из базы данных VGARus. Оценка качества полногеномных последовательностей проводили с помощью программы Genomes Validator (<https://github.com/alexeyvod/GenomesValidator>), для работы использовались геномы с критерием качества «good». Анализ данных полногеномного секвенирования проводили с помощью авторской программы *Pseudomonas Analyser* (<https://github.com/alexeyvod/PseudomonasAnalyser>). Разработку интернет-версии ГИС

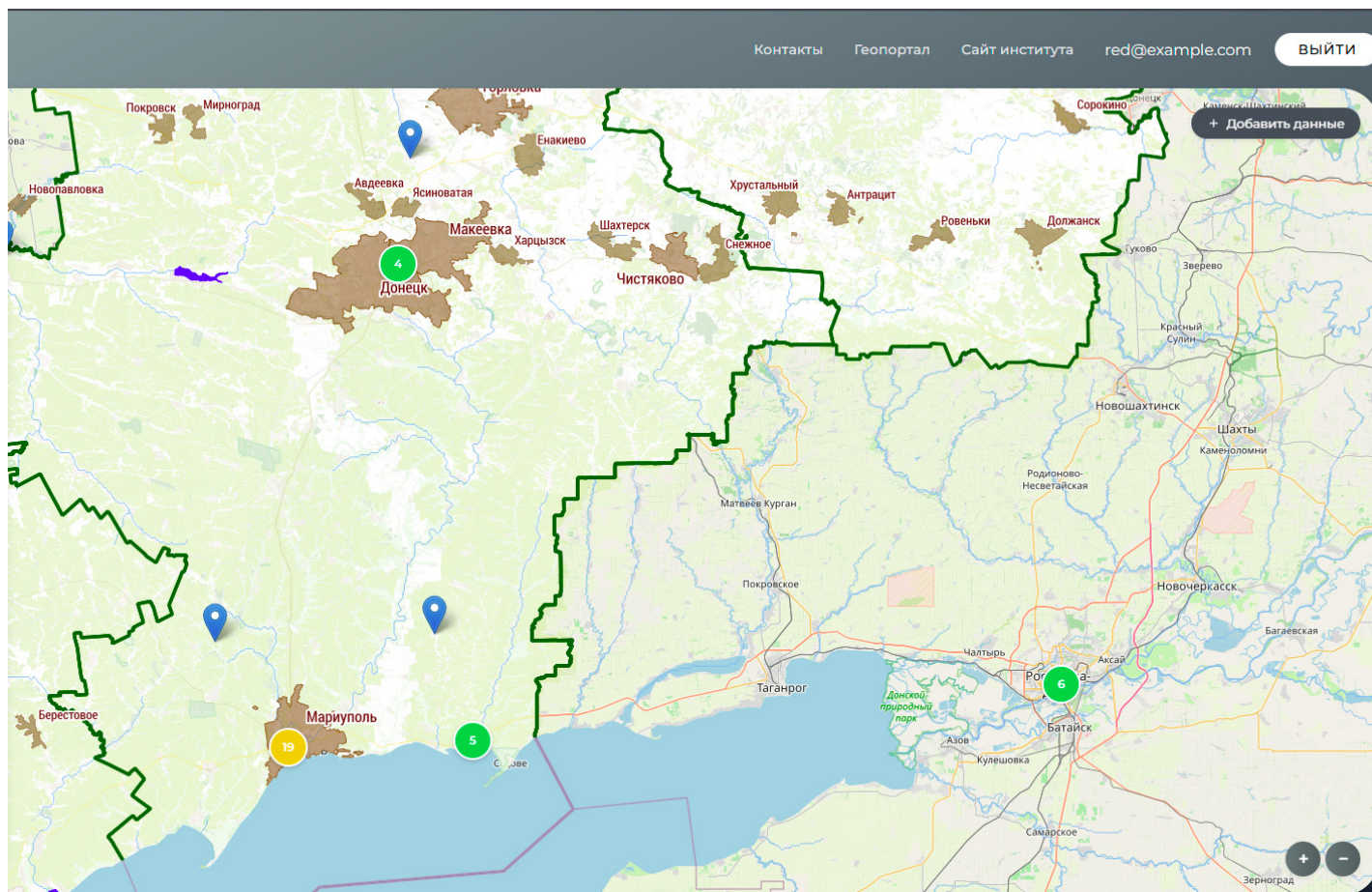


Рис. 1. Общий вид системы. Отдельные штаммы обозначены символом «map pin». Несколько штаммов, сгруппированных вместе, отображаются кружком, в центре указывается, сколько штаммов входит в эту группу.
Fig. 1. General view of the system. Individual strains are marked with a “map pin” symbol. Several strains grouped together are shown with a circle, with the number of strains in the group indicated in the center.

проводили с использованием языков программирования TypeScript, HTML, JavaScript и PHP. Визуализация геоданных реализована с помощью интерактивной карты на базе Leaflet.js, которая включает базовый слой OpenStreetMap и пользовательский слой с тайлами, расположенными локально.

Результаты исследования и их обсуждение

Разработанная «ГИС *Pseudomonas aeruginosa*» доступна по адресу <https://pseudomonas-gis.antiplague.ru>. При этом для работы в ГИС требуется только интернет-браузер (Yandex, Google Chrome, FireFox, Opera и т.п.) и не требуется дополнительного программного обеспечения. Управление отображением данных осуществляется с помощью компьютерной мыши – нажатием можно двигать карту, а колесиком компьютерной мыши – выбирать необходимый масштаб. Отображение мест выделения штаммов зависит от масштаба – на более мелком масштабе штаммы, выделенные на близлежащих территориях, группируются в одну точку, в то время как при изменении масштаба карты становится более детально видно место их изоляции (рис. 1).

При нажатии на символ «map pin», соответствующий конкретному штамму, в отдельном окне отображается информация о нем: название, серогруппа, тип жгутикового антигена, мукоидный фенотип, ExoU/ExoS-тип, дата выделения,

объект выделения, а также дата внесения информации о штамме (рис. 2).

Слева имеется окно, где можно выбирать фильтры, с помощью которых происходит сортировка и отбор штаммов для их визуализации на карте.

В разработанной нами ГИС предусматривается возможность временных выборок в зависимости от года выделения штамма. Для этого необходимо нажать кнопку «Выберите даты» и указать в появившемся окне начальный и конечный год выделения штаммов. На электронной карте будут отображены штаммы, которые попадают в выбранный пользователем временной промежуток. В разработанной системе имеется информация о геномах штаммов, выделенных в промежуток с 1975 по 2025 г.

В интерфейс системы добавлена функция «Сохранить таблицу», позволяющая экспортировать данные обо всех загруженных штаммах в формате .xlsx. Это обеспечивает возможность дальнейшей обработки и анализа информации с использованием внешних программных средств. Кроме того, реализована возможность сохранения графического представления: при выборе соответствующего параметра и нажатии кнопки «Сохранить изображение» отображаемая карта сохраняется в формате .png на устройстве пользователя, что позволяет использовать его для последующего анализа или оформления отчетных материалов.

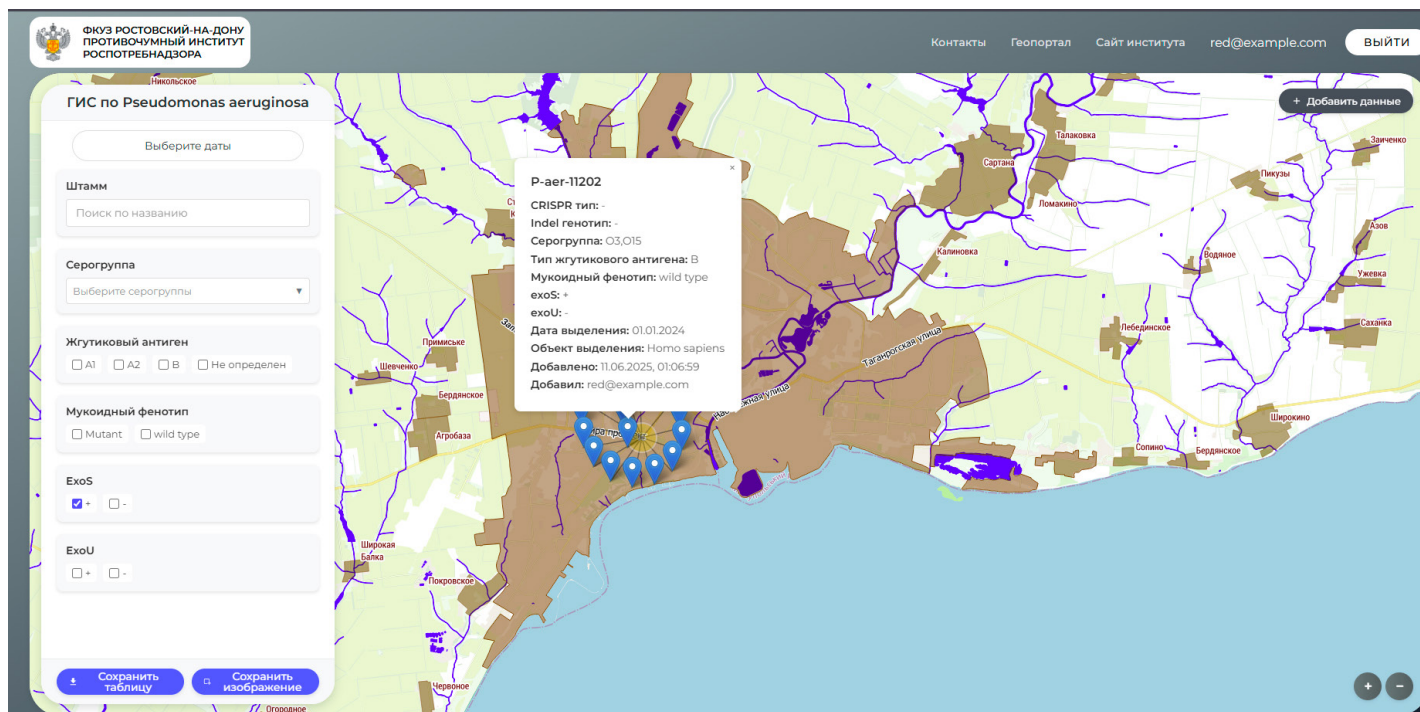


Рис. 2. Окно, отображающее информацию о штамме, а также окно выбора опций для фильтрации.
Fig. 2. A window displaying information about the strain, as well as a window for selecting options for filtering.

Геопозиционирование штаммов было произведено относительно центральной области населенного пункта, в котором он выделен, так как точные координаты и информация о месте выделения штамма *P. aeruginosa* не всегда имеются в базах данных. Аналогично было сделано и с временем выделения, за референс в основном брался год выделения.

ГИС расположена на центральном сервере института, что дает возможность сотрудникам, имеющим доступ, оперативно получать или пополнять информацию практически из любой точки страны и анализировать эти данные. Доступ к ГИС осуществляется через логин и пароль, функции для пользователя разделены, поэтому возможность пополнять данные о штаммах имеется не у всех пользователей данной системы.

Пространственный анализ позволяет не только визуализировать распространение штаммов, но и выявить потенциальные пути их циркуляции. Уже существующий отечественный ресурс AMRmap предоставляет возможность дополнительной оценки клинических изолятов с точки зрения их антибиотикорезистентности, наличия генетических маркеров устойчивости, а также предлагает статистические данные по выделенным штаммам. Вместе с тем платформа не содержит информации о факторах патогенности, а также не предусматривает доступ к данным об отдельных изолятах, что ограничивает возможности анализа в части определения их клональной принадлежности.

Разработка специализированных ГИС-ресурсов, таких как «ГИС *Pseudomonas aeruginosa*», способствует более эффективному выполнению задачи позволяя визуализации распространения штаммов и выявлению потенциальных зон риска. У *P. aeruginosa*, помимо циркулирующих клонов высокого риска (ST 111, 175, 233, 235, 277, 357, 654, 773), выявлены генетические детерминанты, связанные с тяжелым течением инфекции у пациентов [12, 13]. К числу наиболее значимых

факторов патогенности относятся гены *exoS* и *exoU*, кодирующие экзотоксины, которые играют ключевую роль в развитии инфекционного процесса и рассматриваются как важные маркеры вирулентности [12, 14]. Так, к примеру, штаммы *exoS*⁺ ассоциированы с острыми клиническими проявлениями, нередко приводящими к летальному исходу, тогда как штаммы *exoU*⁺ характеризуются более высокой вирулентностью и чаще вызывают тяжелые формы инфекции, включая смертельные случаи в течение 24–72 ч после начала клинических проявлений [15]. В то же время существуют гипервирулентные штаммы *exoS*⁺/*exoU*⁺ с повышенным цитотоксическим и патогенетическим потенциалом в связи с повышенным уровнем экспрессии *ExoS* и *ExoU* [16, 17].

Всемирная организация здравоохранения в 2024 г. пересмотрела классификацию *P. aeruginosa* и внесла ее в группу патогенов высокого приоритета, клоны с повышенным риском летального исхода распространены по всему миру и представляют угрозу для здоровья пациентов с инфекциями, вызванными этими штаммами, что требует их мониторинга и отслеживания мест циркуляции на территории нашей страны [18].

Так, благодаря разработанной ГИС можно оценить степень распространенности штаммов *exoS*⁺, *exoU*⁺, *exoS*⁺/*exoU*⁺. Среди геномов, доступных для анализа, на территории РФ преобладающим генотипом является *exoS*⁺, что составляет 88% от всех российских штаммов, при этом временной диапазон выделения данного генотипа очень широк, охватывая временной отрезок с 2014 по 2025 г. Генотип *exoU*⁺ встречается относительно редко и составляет ~12% среди штаммов *P. aeruginosa*, выделенных на территории России. Полученные данные согласуются с результатами других исследований, в которых доля изолятов с данным генотипом находилась на сопоставимом уровне, а в нашем случае была даже ниже [19]. Следует отметить, что времен-

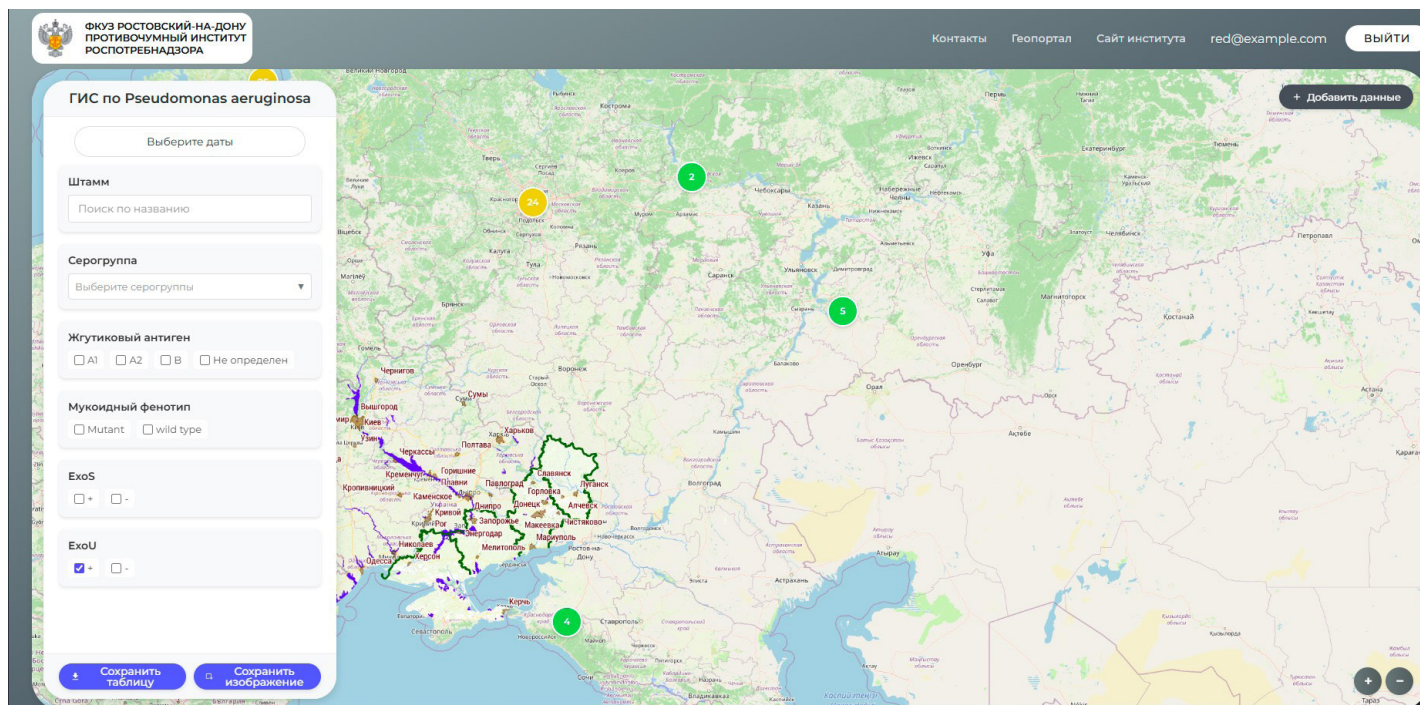


Рис. 3. Распространение генотипа *exoU*⁺ на территории Российской Федерации.
Fig. 3. Distribution of the *exoU*⁺ genotype in the Russian Federation.

ной период выявления штаммов с генотипом *exoU*⁺ охватывает практически те же годы, что и для *exoS*⁺, а именно – с 2014 по 2024 г. При этом большинство изолятов с генотипом *exoU*⁺ (68%) были выделены в г. Москве, что может быть связано как с высокой плотностью населения мегаполиса, так и с высоким уровнем миграции. Вместе с тем данный генотип пока зафиксирован лишь в центральных регионах России, на территории Поволжья и в Краснодарском крае. Это может указывать как на недостаточную представленность полногеномных данных по другим регионам, так и на ограниченное географическое распространение штаммов с подобным генотипом.

Примечательно, что генотип *exoU*⁺ не выявлен на территории ДНР и прилегающих районов Ростовской области, включая г. Ростов-на-Дону, при этом данный генотип присутствует в изолятах из г. Краснодара. Это представляется интересным, поскольку г. Ростов-на-Дону является одним из ключевых транспортных узлов, связывающих регионы Северного Кавказа и Крым с центральными районами России (рис. 3) [20].

Отсутствие выявленных случаев распространения штаммов *exoU*⁺ на территории Ростовской области и ДНР, несмотря на тесные транспортные и хозяйственные связи с Краснодарским краем, позволяет предположить ограниченный характер циркуляции данных штаммов и их локальное происхождение в г. Краснодаре. С другой стороны, это также может указывать на недостаточный объем информации о подобных генотипах, циркулирующих в данных регионах, как уже говорилось выше, что требует более тщательного исследования этого вопроса. Однако генотипы штаммов, представленные в г. Краснодаре, имеют сходные не только вирулотипы, но и серотип, а также жгутиковый антиген, что указывает на клональную природу данных изолятов и локальный характер их происхождения.

Примечательно, что штаммы *exoU*⁺, выделенные в Москве, Нижнем Новгороде и Самаре, демонстрируют сходство, указывающее на их клональное происхождение. Однако каждый штамм из этих регионов обладает уникальной комбинацией генетических маркеров (серотип и жгутиковый антиген), что придает выделенным изолятам выраженную региональную специфичность. Особое внимание заслуживает факт длительной циркуляции большинства штаммов *exoU*⁺ в г. Москве – с 2015 по 2024 г. Это может свидетельствовать о сохранении и накоплении наиболее вирулентных вариантов *P. aeruginosa* в условиях мегаполиса с высокой миграцией. Следовательно, необходим усиленный эпидемиологический надзор с целью предотвращения дальнейшего распространения высоковирулентных штаммов.

На территории РФ гипервирулентные генотипы *P. aeruginosa* – *exoS*⁺/*exoU*⁺ – представлены лишь 2 штаммами (рис. 4). Несмотря на их сходство по вирулотипу, типу жгутикового антигена и серогруппе, различие во времени выделения не позволяет однозначно исключить клональное происхождение данных изолятов. Вместе с тем наличие мукоидного фенотипа только у штамма, выделенного в г. Москве, указывает на потенциальную независимость и возможность циркуляции в разных регионах страны как отдельных клинических вариантов.

Анализ имеющихся сведений о генетической структуре и географическом распространении клинических штаммов *P. aeruginosa* демонстрирует необходимость комплексного подхода, объединяющего геоинформационные технологии и молекулярно-генетические методы в рамках эпидемиологического надзора. Такая интеграция способствует не только прослеживанию путей циркуляции возбудителя, но и выявлению регионов с повышенным риском распространения гипервирулентных штаммов.

Разработанный нами ресурс представляет собой удобный и доступный инструмент для анализа пространственного

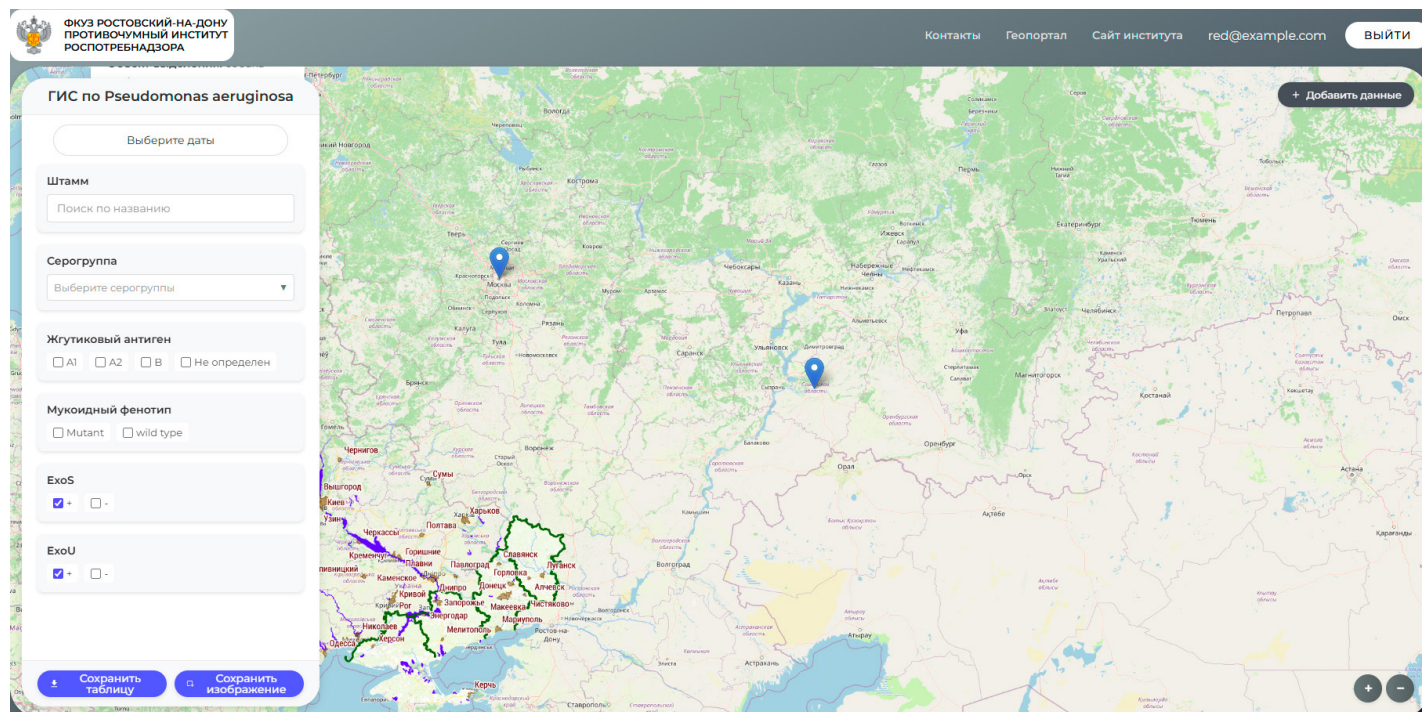


Рис. 4. Распространение генотипа *exoS*+/*exoU*+ на территории Российской Федерации.
Fig. 4. Distribution of the *exoS*+/*exoU*+ genotype in the Russian Federation.

распространения различных изолятов синегнойной палочки. Его использование может быть востребовано в системе эпидемиологического мониторинга. Регулярное обновление базы данных с включением новых генетических характеристик позволит повысить чувствительность наблюдения за изменением популяционной структуры возбудителя, прогнозировать возможные вспышки и оперативно реагировать на появление потенциально опасных вариантов и отследить их внутрибольничное распространение.

Дальнейшее развитие специализированных платформ, таких как «ГИС *Pseudomonas aeruginosa*», способствует профилактике распространения клинически значимых форм данного патогена.

Заключение

В заключение следует отметить, что ГИС-технологии все активнее используются в эпидемиологическом мониторинге для пространственного анализа распространения инфекционных заболеваний. В рамках настоящего исследования впервые разработана ГИС для *P. aeruginosa*, основанная на интеграции данных о генетических маркерах и молекулярных характеристиках штаммов, предоставляющая возможность проводить выборку штаммов непосредственно на электронной карте. С помощью «ГИС *Pseudomonas aeruginosa*» продемонстрировано локальное распространение наиболее вирулентных изолятов *exoU*⁺ на территории России, характерное для определенных регионов, что указывает на региональную специфичность их циркуляции. Поэтому использование данной системы будет весьма полезно в практике работы учреждений, занимающихся проведением эпидемиологического надзора за синегнойной инфекцией. В дальнейшем планируется пополнять ГИС информацией, имеющей значение для выявления генетиче-

ских особенностей штаммов, путей распространения и выявления клональных комплексов. ГИС расположена на сервере ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора и доступна для работы сотрудникам всех заинтересованных ведомств.

Информация о финансировании

Исследование проведено в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Роспотребнадзора (2021–2025 гг.).

Financial support

The study was conducted as part of the Rospotrebnadzor industry research program (2021–2025).

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. Побединский ГГ, Сарсков СА, Вьюшков МВ. Прототип раздела эпидемиологического атласа «Мониторинг заболеваемости COVID-19». Фундаментальные

- и прикладные аспекты анализа риска здоровью населения: Материалы всероссийской научно-практической интернет-конференции молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора с международным участием. Пермь: Изд-во Перм. нац. исслед. политехн. ун-та, 2020;394-402.
2. Попова АЮ, Ежлова ЕБ, Смоленский ВЮ, Летушев АН, Трескин АА, Иванова АВ, и др. Автоматизированная информационная система «Периметр» – инструмент для модернизации информационного и технического обеспечения санитарно-карантинного контроля. Проблемы особо опасных инфекций. 2023;3:6-14. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-6-14
 3. Водопьянов АС, Водопьянов СО, Мишанькин БН, Олейников ИП. ГИС «Холера-Интернет» – использование современных интернет-технологий в эпидемиологической практике. Здоровье населения и среда обитания. 2016;12(285):36-39.
 4. Герасименко ДК, Рязанова АГ, Буравцева НП, Мезенцев ВМ, Семенко ОВ, Аксенова ЛЮ, и др. Ретроспективный анализ эпизоотолого-эпидемиологической ситуации по сибирской язве в Республике Крым с применением ГИС-технологий. Здоровье населения и среда обитания. 2020;11(332):78-84. DOI: 10.35627/2219-5238/2020-332-11-78-84
 5. Водяницкая СЮ, Судьина ЛВ, Логвин ФВ, Водопьянов АС, Киреев ЮГ, Баташев ВВ. ГИС-технологии в совершенствовании эпидемиологического надзора за сибирской язвой в Ростовской области. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2016;21(3):152-156. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-152-156
 6. Смелянский ВП, Жуков КВ, Бородай НВ, Никитин ДН, Таратутина МН, Кондратенко ЕВ. Современное состояние проблемы природно-очаговых инфекций на территории Волгоградской области. Здоровье населения и среда обитания. 2021;11:83-93. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-11-83-93
 7. Дубянский ВМ, Мезенцев ВМ, Ашибокон УМ. Пространственное распределение эпизоотических проявлений чумы в связи с орографическими и эдафическими факторами в Центрально-Кавказском высокогорном природном очаге. Проблемы особо опасных инфекций. 2024;4:63-69. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-63-69
 8. Кузьменков АЮ, Виноградова АГ, Трушин ИВ, Эйдельштейн МВ, Авраменко АА, Дехнич АВ, и др. AMRmap-система мониторинга антибиотикорезистентности в России. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2021;23(2):198-204. DOI: 10.36488/смас.2021.2.198-204
 9. Ковалевич АА, Водопьянов АС, Писанов РВ. Современные аспекты генетической организации *Pseudomonas aeruginosa* как одного из возбудителей внебольничных и нозокомиальных пневмоний. Бактериология. 2024;9(1):87-94. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-1-87-94
 10. Перфильева ДЮ, Мирошниченко АГ, Куликов ЕС, Бойков ВА, Нестерович СВ, Перфильев ВЮ. Внутрибольничные инфекции: взгляд на проблему в условиях глобальной угрозы антибиотикорезистентности (обзор). Сибирский журнал клинической и экспериментальной медицины. 2024;39(1):28-37. DOI: 10.29001/2073-8552-2024-39-1-28-37
 11. Mekonnen H, Seid A, Molla Fenta G, Gebrecherkos T. Antimicrobial resistance profiles and associated factors of *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection among patients admitted at Dessie comprehensive specialized Hospital, North-East Ethiopia. A cross-sectional study. PLoS One. 2021 Nov 15;16(11):e0257272. DOI: 10.1371/journal.pone.0257272
 12. Алексеева АЕ, Бруснигина НФ, Махова МА. Оценка механизмов устойчивости к антимикробным препаратам клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*. Русский медицинский журнал. 2023;10:48-51.
 13. Recio R, Sánchez-Diener I, Viedma E, Meléndez-Carmona MÁ, Villa J, Orellana MÁ, et al. Pathogenic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia isolates in a high-endemicity setting for ST175 and ST235 high-risk clones. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2020 Apr;39(4):671-678. DOI: 10.1007/s10096-019-03780-z
 14. Plókarz D, Bierowiec K, Rypuła K. Screening for Antimicrobial Resistance and Genes of Exotoxins in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Infected Dogs and Cats in Poland. Antibiotics (Basel). 2023 Jul 24;12(7):1226. DOI: 10.3390/antibiotics12071226
 15. Gupte A, Jyot J, Ravi M, Ramphal R. High pyocyanin production and non-motility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates are correlated with septic shock or death in bacteremic patients. PLoS One. 2021 Jun 11;16(6):e0253259. DOI: 10.1371/journal.pone.0253259
 16. Song Y, Mu Y, Wong NK, Zhuo Y, Juan L, Min Y. Emergence of hypervirulent *Pseudomonas aeruginosa* pathotypically armed with co-expressed T3SS effectors ExoS and ExoU. Hlife. 2023;1(1):44-56. DOI: 10.1016/j.hlife.2023.02.001
 17. Sarges EDSNF, Rodrigues YC, Furlaneto IP, de Melo MVH, Brabo GLDC, Lopes KCM, et al. *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system virulotypes and their association with clinical features of cystic fibrosis patients. Infection and Drug Resistance. 2020;3:771-3781. DOI: 10.2147/IDR.S273759
 18. World Health Organization. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance, to guide research, development, and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. World Health Organization. 2024;11.
 19. Nolasco-Romero CG, Prado-Galbarro FJ, Jimenez-Juarez RN, Gomez-Ramirez U, Cancino-Díaz JC, López-Marceliano B, et al. The exoS, exoT, exoU and exoY Virulotypes of the Type 3 Secretion System in Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* as a Death Risk Factor in Pediatric Patients. Pathogens. 2024;13(12):1030. DOI: 10.3390/pathogens13121030
 20. Андреева ЮВ. Градостроительное формирование и развитие территории промышленности в структуре города Ростова-на-Дону. Architecture and Modern Information Technologies. 2023;1:287-296. DOI: 10.24412/1998-4839-2023-1-287-296

References

1. Pobedinsky GG, Sarskov SA, V'yushkov MV. Prototip razdela epidemiologicheskogo atlasa «Monitoring zabolevaemosti COVID-19». Fundamental'nye i prikladnye aspekty analiza riska zdorov'yu naseleniya: Materialy vserossiiskoi nauchno-prakticheskoi internet-konferentsii molodykh uchenykh i spetsialistov Rospotrebnadzora s mezhdunarodnym uchastiem. Perm': Izd-vo Perm. nats. issled. politekhn. un-ta, 2020;394-402. (In Russian).
2. Popova AYU, Ezhlova EB, Smolensky VYu, Letyushev AN, Treskin AA, Ivanova AV, et al. The automated information system "Perimeter" is a tool for the modernization of information and technical support of sanitary and quarantine control. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2023;3:6-14. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-3-6-14 (In Russian).
3. Vodop'yanov AS, Vodop'yanov SO, Mishan'kin BN, Oleynikov IP. GIS "CholeraInternet" – the use of modern internet technologies in epidemiological practice. Public Health and Life Environment. 2016;12(285):36-39. (In Russian).
4. Gerasimenko DK, Ryzanova AG, Buravtseva NP, Mezentsev VM, Semenko OV, Aksanova LYU, et al. A GIS-based retrospective analysis of the epizootiologic and epidemiological situation of anthrax in the Republic of Crimea. Public Health and Life Environment (PH&LE). 2020;11(332):78-84. DOI: 10.35627/2219-5238/2020-332-11-78-84 (In Russian).
5. Vodyanitskaya SYu, Sud'ina LV, Logvin FV, Vodop'yanov AS, Kireev YuG, Batashev VV. GIS-technologies in the advancement of epidemiological surveillance for anthrax in the Rostov region. Epidemiology and Infectious Diseases. 2016;21(3):152-156. DOI: 10.18821/1560-9529-2016-21-3-152-156 (In Russian).
6. Smelyanskii VP, Zhukov KV, Borodai NV, Nikitin DN, Taratutina MN, Kondratenko EV. The problem of natural focal infectious diseases in the Volgograd Region: A state-of-the-art review. Public Health and Life Environment (PH&LE). 2021;11:83-93. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-11-83-93 (In Russian).
7. Dubyansky VM, Mezentsev VM, Ashibokov UM. Spatial Distribution of Epizootic Manifestations of Plague in Connection with Orographic and Edaphic Factors in the Central Caucasian High-Mountain Natural Focus. Problems of Particularly

- Dangerous Infections. 2024;4:63-69. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-63-69 (In Russian).
8. Kuz'menkov AYu, Vinogradova AG, Trushin IV, Eidel'shtein MV, Avramenko AA, Dekhnich AV, et al. AMRmap – antibiotic resistance surveillance system in Russia. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2021;23(2):198-204. DOI: 10.36488/cmac.2021.2.198-204 (In Russian).
 9. Kovalevich AA, Vodopyanov AS, Pisanov RV. Modern aspects of the genetic organization of *Pseudomonas aeruginosa* as one of the pathogens of community-acquired and nosocomial pneumonia. *Bacteriology*. 2024;9(1):87-94. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-1-87-94 (In Russian).
 10. Perfilova DYu, Miroshnichenko AG, Kulikov ES, Boykov VA, Nesterovich SV, Perfilov VYu. Nosocomial infections: a look at the problem in the context of the global threat of antibiotic resistance (review). *Siberian Journal of Clinical and Experimental Medicine*. 2024;39(1):28-37. DOI: 10.29001/2073-8552-2024-39-1-28-37 (In Russian).
 11. Mekonnen H, Seid A, Molla Fenta G, Gebrecherkos T. Antimicrobial resistance profiles and associated factors of *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* nosocomial infection among patients admitted at Dessie comprehensive specialized Hospital, North-East Ethiopia. A cross-sectional study. *PLoS One*. 2021 Nov 15;16(11):e0257272. DOI: 10.1371/journal.pone.0257272
 12. Alekseeva AE, Brusnigina NF, Makhova MA. Assessment of the antimicrobial resistance mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains. *RMJ*. 2023;10:48-51. (In Russian).
 13. Recio R, Sánchez-Diener I, Viedma E, Meléndez-Carmona MÁ, Villa J, Orellana MÁ, et al. Pathogenic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia isolates in a high-endemicity setting for ST175 and ST235 high-risk clones. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020 Apr;39(4):671-678. DOI: 10.1007/s10096-019-03780-z
 14. Plókarz D, Bierowiec K, Rypuła K. Screening for Antimicrobial Resistance and Genes of Exotoxins in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Infected Dogs and Cats in Poland. *Antibiotics (Basel)*. 2023 Jul 24;12(7):1226. DOI: 10.3390/antibiotics12071226
 15. Gupte A, Jyot J, Ravi M, Ramphal R. High pyocyanin production and non-motility of *Pseudomonas aeruginosa* isolates are correlated with septic shock or death in bacteremic patients. *PLoS One*. 2021 Jun 11;16(6):e0253259. DOI: 10.1371/journal.pone.0253259
 16. Song Y, Mu Y, Wong NK, Zhuo Y, Juan L, Min Y. Emergence of hypervirulent *Pseudomonas aeruginosa* pathotypically armed with co-expressed T3SS effectors ExoS and ExoU. *Hlife*. 2023;1(1):44-56. DOI: 10.1016/j.hlife.2023.02.001
 17. Sarges EDSNF, Rodrigues YC, Furlaneto IP, de Melo MVH, Brabo GLDC, Lopes KCM, et al. *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion system virulotypes and their association with clinical features of cystic fibrosis patients. *Infection and Drug Resistance*. 2020;3:771-781. DOI: 10.2147/IDR.S273759
 18. World Health Organization. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: bacterial pathogens of public health importance, to guide research, development, and strategies to prevent and control antimicrobial resistance. World Health Organization. 2024;11.
 19. Nolasco-Romero CG, Prado-Galbarro FJ, Jimenez-Juarez RN, Gomez-Ramirez U, Cancino-Díaz JC, López-Marceliano B, et al. The exoS, exoT, exoU and exoY Virulotypes of the Type 3 Secretion System in Multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* as a Death Risk Factor in Pediatric Patients. *Pathogens*. 2024;13(12):1030. DOI: 10.3390/pathogens13121030
 20. Andreeva JV. The urban planning formation and development of the territory of industry in the structure of the city of Rostov-on-Don. *Architecture and Modern Information Technologies*. 2023;1:287-296. DOI: 10.24412/1998-4839-2023-1-287-296 (In Russian).

Информация о соавторах:

Водопьянов Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-9056-3231

Василенко Евгений Дмитриевич, системный администратор, отдел информационных технологий ФКУЗ «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0009-0009-0923-9265

Писанов Руслан Вячеславович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий лабораторией молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-7178-8021

Information about co-authors:

Alexey S. Vodopyanov, MD, PhD, Leading Researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-9056-3231

Evgeny D. Vasilenko, system administrator, Information Technology Department, Rostov-on-Don Antiplague Institute Rospotrebnadzor
ORCID: 0009-0009-0923-9265

Ruslan V. Pisanov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-7178-8021

НОВОСТИ НАУКИ

Заморозка под высоким давлением повышает выживаемость клеток при использовании меньшего количества криопротекторов

Криоконсервация путем витрификации обычно требует 30–50% об./об. цитотоксичных проникающих криопротекторных агентов (КПА), чтобы предотвратить образование кристаллов льда во время замораживания и оттаивания, что ограничивает ее более широкое применение. Поскольку давление подавляет кристаллизацию льда, применение высокого давления во время витрификации может позволить снизить концентрацию КПА при сохранении жизнеспособности клеток. В этом исследовании мы использовали устройство криофиксации с высоким давлением (HPF), которое обычно используется для криофиксации, для успешной криоконсервации двумерных слоев клеток и трехмерных клеточных сфероидов с 20–30% об./об. проникающих КПА. По сравнению с обычным погружением в жидкий азот, слои клеток HPF демонстрировали более высокую жизнеспособность после оттаивания и лучшее удержание на субстрате, что позволяло проводить последующее размножение. Сфероиды клеток HPF показали улучшенную жизнеспособность клеток, метаболическую активность и сохраняли межклеточное сцепление. Разработка устройств HPF специально для криоконсервации в сочетании с передовыми методами оттаивания сулит достижение витрификации с низким или даже без КПА.

Fang Song, et al.

A proof-of-concept study on high pressure freezing for cryopreservation.
PNAS Nexus (2026). DOI: 10.1093/pnasnexus/pgag065

Изучение биологических свойств маточных культур холерных бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 в жидкой и лиофилизированной форме

М.П.Погожова¹, Е.А.Глазкова², К.С.Гумаюнова², А.В.Комиссаров², М.В.Овчинникова², Н.Е.Гаевская¹,
А.В.Тюрина¹, Ю.В.Сизова¹, И.А.Иванова¹

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

²ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация

Цель исследования. Сравнить биологические свойства холерных бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 в жидкой форме и в форме лиофилизата.

Материалы и методы. Использовали стерильные фильтраты фаголизатов бульонных культур холерных бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3, а также их сублимационно высушенные субстанции с применением пептон-желатиновой среды высушивания (пептон 5% и желатин 1%). Жидкие и сухие формы маточных культур бактериофагов хранили по 1 мл в ампулах вместимостью 5 мл.

Результаты. Показатели скорости адсорбции отличаются достаточно высокими значениями у обоих исследованных фагов (от 10^{-6} мл/мин до 10^{-7} мл/мин). Экспериментально доказано оптимальное значение множественности инфекции, которое составляет 1:100 (фаг/бактериальная клетка). Установлено, что репликативные циклы бактериофагов должны осуществляться в течение 3 ч (для Rostov-13) и 6 ч (для Rostov-M3). Определена длительность латентного периода в отношении вышеуказанных фагов, которая составила 50 и 120 мин соответственно. Выявлено, что бактериофаг Rostov-13 обладает большей урожайностью в сравнении с бактериофагом Rostov-M3 (300 и 50 фаговых частиц на одну бактериальную клетку соответственно). Исследования длительности латентного периода и урожайности дают основные заключения, что значения данных параметров являются допустимыми для конструирования биопрепаратов.

Заключение. Результаты, полученные при сравнении жидких бактериофагов и их лиофилизатов, сопоставимы. Показано, что лиофилизация является эффективным методом сохранения свойств фагов. Эти данные крайне важны для проведения исследований по разработке технологии производства биологических препаратов, включающих холерные бактериофаги Rostov-13 и Rostov-M3.

Ключевые слова: бактериофаги, биологические свойства, одиночный цикл развития, лиофилизаты, сравнительное изучение характеристик

Для цитирования: Погожова М.П., Глазкова Е.А., Гумаюнова К.С., Комиссаров А.В., Овчинникова М.В., Гаевская Н.Е., Тюрина А.В., Сизова Ю.В., Иванова И.А. Изучение биологических свойств маточных культур холерных бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 в жидкой и лиофилизированной форме. Бактериология. 2026; 11(1): 42–53. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-42-53

Study of biological properties of uterine cultures of cholera bacteriophages Rostov-13 and Rostov-M3 in liquid and lyophilized form

M.P.Pogozhova¹, E.A.Glazkova², K.S.Gumayunova², A.V.Komissarov², M.V.Ovchinnikova², N.E.Gaevskaya¹,
A.V.Tyurina¹, Yu.V.Sizova¹, I.A.Ivanova¹

¹Rostov-on-Don Research Anti-Plague Institute of the Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation;

²Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation

Objective. To compare the biological properties of cholera bacteriophages Rostov-13 and Rostov-M3 in liquid form and in lyophilized form.

Materials and methods. Sterile filtrates of phagolysates of broth cultures of cholera bacteriophages Rostov-13 and Rostov-M3, as well as their freeze-dried substances using peptone-gelatin drying medium (peptone 5% and gelatin 1%) were used. Liquid and dry forms of uterine cultures of bacteriophages were stored in ampoules with a capacity of 5 ml by 1 ml.

Для корреспонденции:

Погожова Марина Павловна, научный сотрудник лаборатории бактериофагов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117

Телефон: (863) 240-9133

E-mail: pogojova_mp@antiplague.ru

ORCID: 0000-0001-9779-3577

Статья поступила 20.08.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Marina P. Pogozhova, Researcher, Laboratory of Bacteriophages, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор

Address: 17 M.Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation

Phone: (863) 240-9133

E-mail: pogojova_mp@antiplague.ru

ORCID: 0000-0001-9779-3577

The article was received 20.08.2025, accepted for publication 30.03.2027

Results. The adsorption rate indicators are distinguished by fairly high values for the two phages studied (from 10^6 ml/min to 10^7 ml/min). The optimal value of the multiplicity of infection has been experimentally proven to be 1:100 (phage/bacterial cell). It was established that the replicative cycles of bacteriophages should be carried out within 3 hours (for Rostov-13) and 6 hours (for Rostov-M3). The duration of the latent period in relation to the above-mentioned phages was determined to be 50 and 120 minutes, respectively. It was found that the Rostov-13 bacteriophage has a higher yield compared to the Rostov-M3 bacteriophage (300 and 50 phage particles per bacterial cell). The study of the duration of the latent period and productivity provides grounds to conclude that the values of these parameters are acceptable for the design of biopreparations.

Conclusion. The results obtained when comparing liquid bacteriophages and their lyophilizates are comparable. It is shown that lyophilization is an effective method for preserving the properties of phages. These data are extremely important for conducting research on the development of technology for the production of biological preparations, including cholera bacteriophages Rostov-13 and Rostov-M3.

Key words: biological properties, single development cycle, bacteriophages, lyophilizates, comparative study of characteristics

For citation: Pogozhova M.P., Glazkova E.A., Gumayunova K.S., Komissarov A.V., Ovchinnikova M.V., Gaevskaya N.E., Tyurina A.V., Sizova Yu.V., Ivanova I.A. Study of biological properties of uterine cultures of cholera bacteriophages Rostov-13 and Rostov-M3 in liquid and lyophilized form *Bacteriology*. 2026; 11(1): 42–53. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-42-53

В XXI веке продолжается седьмая пандемия холеры, в ходе которой с 2001 по 2022 г. зарегистрировано 6 932 703 случаев холеры в 129 странах. События по холере, произошедшие в 2010 г. в регионе Карибского бассейна, на Гаити, напомнили о социальной значимости этой опасной инфекционной болезни, которая может быть занесена на любой континент, в любую страну мира и, при наличии предпосылок для распространения возбудителя инфекции, какковыми являются социальные и природные условия, может наносить значительный экономический ущерб [1].

Распространение штаммов *Vibrio cholerae*, обладающих множественной антибиотикорезистентностью, резко ограничивает выбор эффективных средств этиотропной терапии холеры, подчеркивая важность оптимизации современного лечения и предотвращения контаминации возбудителем. В связи с этим актуальны исследования бактериофагов, преимуществом которых является способность поражать как чувствительные, так и полиантибиотикорезистентные штаммы возбудителей инфекции [1].

В 2020-х гг. нашего столетия учеными ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора проведены исследования по отбору бактериофагов, перспективных для лечения и профилактики холеры. Показаны возможность применения и эффективность жидкого экспериментального препарата, состоящего из вибриофагов Rostov-13 и Rostov-M3, активных в отношении *V. cholerae* O1 [2, 3], а также комплексного противохолерного препарата на основе упомянутых фагов и иммуноэнтросорбентов [4]. Эффективная технология получения вышеназванных бактериофагов требует полного знания ряда биологических характеристик, которые на тот момент были еще не исследованы. Актуальность разработки лечебно-профилактических препаратов бактериофагов и технологий их производства обозначена в Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 г. [5].

Производство препарата бактериофагов, осуществляемое с использованием технологического этапа культивирования микроорганизмов, требует наличия банка маточных культур бактериальных вирусов. Штаммы монофагов хранят, как правило, в жидкой форме в течение длительного временного промежутка, что может привести к снижению или полной утрате свойств культуры. Эффективным методом сохранения свойств микроорганизмов служит лиофили-

зация [6, 7], дающая возможность хранить сублимационно высушенные биологические препараты без снижения их активности. Правилами проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза определено, что «...хранение производственной коллекции бактериофагов осуществляется в жидком состоянии при температуре от 2 до 8°C в течение 5 лет с ежегодным пересевом на бактериальных штаммах или в лиофилизированном состоянии...» [8]. Авторами статьи ранее получены лиофилизаты бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3. Для верификации сохранности свойств фагов после различных технологических манипуляций целесообразно проведение дополнительных исследований [9, 10].

В доступной литературе отсутствуют сведения о таких биологических характеристиках бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3, как скорость адсорбции на бактериальной клетке, множественность инфекции, длительность латентного периода, урожайность и оптимальное время репликации на индикаторных нетоксигенных штаммах. Также не менее важно оценить влияние сублимационного высушивания на сохранность вышеназванных свойств. Решение обозначенных вопросов является целью данного исследования.

Материалы и методы

Все исследования с использованием патогенных биологических агентов проводили в соответствии с нормативными документами [11].

Холерные бактериофаги

Rostov-13. Вирулентный фаг. Класс *Caudoviricetes*, семейство *Autographiviridae*, относится к морфотипу C (подовирус). Образует прозрачные негативные колонии диаметром 2–5 мм. Имеет многогранную головку 48,26 × 47,15 нм, короткий несократимый хвост 13,78 нм. Устойчив к действию хинозола в концентрации 0,01% и к действию хлороформа в соотношении 1:10. Оценка литической активности была проведена ранее на 60 штаммах *V. cholerae* O1 El Tor и 30 штаммах биовара classical. Бактериофаг лизирует 97% штаммов биовара El Tor и 54,5% штаммов биовара classical. Бактериофаг обладает строгой специфичностью (не лизирует близкородственные бактерии). Геном бактериофага представлен линейной двухцепочечной ДНК длиной 36326 п.н. с содержанием G+C 42%. Имеет 44 открытые рамки считыва-

ния (ORF). В геноме присутствуют ORF, кодирующие литические ферменты: эндолизины и пептидогликанлизирующий фермент трансгликозилаза, а также генетические детерминанты метаболизма нуклеотидов, репликации и репарации ДНК: белки хвостовых структур и сборки капсида, ДНК-праймаза/хеликаза, ДНК-направленная ДНК-полимераза, ДНК-лигаза, эндонуклеаза I, экзонуклеаза, терминаза большая (gp19) и малая (gp18) субъединицы (Genbank: OK169294-OK169295).

Rostov-M3. Вирулентный фаг. Класс *Caudoviricetes*, семейство не установлено, относится к морфотипу А (миовирусы). Образует круглые прозрачные негативные колонии размером 1,5–2 мм. Имеет многогранную головку 45,1 × 53,3 нм, короткий сократимый хвост 11,3 нм. Устойчив к действию хинозола в концентрации 0,01% в мл и к действию хлороформа в соотношении 1:10. Оценка литической активности была проведена ранее на 60 штаммах *V. cholerae* O1 El Tor и 30 штаммах биовара classical. Бактериофаг лизирует 83,3% штаммов биовара classical и 43,3% штаммов биовара El Tor. Бактериофаг обладает строгой специфичностью (не лизирует близкородственные бактерии). Геном бактериофага состоит из 46 669 пар нуклеотидов (п.н.) с содержанием G+C 45,6%. Имеет 50 ORF. В геноме присутствуют ORF, кодирующие генетические детерминанты метаболизма нуклеотидов, репликации и репарации ДНК: белки хвостовых структур и сборки капсида, а также литические ферменты, такие как предполагаемый белок хвостового отростка/лизозима (Genbank: MN379460-MN379463).

Штаммы холерного вибриона

В качестве индикаторных штаммов холерного вибриона при накоплении бактериофага и определении количества жизнеспособных фаговых частиц использовали: для Rostov-13 – *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa P-13169 (KM 199), для Rostov-M3 – *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 20554 (KM 2157), полученные из лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора и из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

Определение концентрации фаговых частиц в препаратах осуществляли методом агаровых слоев согласно нормативным документам [12, 13]. При титровании параллельно засеивали по 4 чашки с фагом из одного и того же разведения. Титр определяли путем подсчета числа негативных колоний на параллельных чашках и умножали на показатель разведения, выражая в количестве бляшкообразующих единиц (БОЕ), образовавшихся на плотной питательной среде в 1 мл фаголизата ($n \cdot 10^x$ БОЕ/мл).

Для определения скорости адсорбции фага на бактериальной клетке использовали ранее предложенные методические приемы [9, 14, 15]. В пробу добавляли 0,5 мл суспензии индикаторного штамма *V. cholerae* до конечной концентрации $5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл и 0,5 мл соответствующего бактериофага до конечной концентрации для Rostov-13 – $5\text{--}9 \cdot 10^7$, для Rostov-M3 – $2\text{--}5 \cdot 10^6$ БОЕ/мл и инкубировали при температуре 20–22°C. Образцы в объеме 0,1 мл отбирали через определенные промежутки времени (1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60 мин), добавляли хлороформ в

соотношении 1:10 для инактивации бактериальной культуры, затем центрифугировали в течение 2 мин при 4800 g на центрифуге MPW-251 (MPW Med, Польша). После центрифугирования надосадочную жидкость титровали по Грациа для определения неадсорбированных фагов. Количественно полученные результаты оценивали константой скорости адсорбции ($K_{\text{адс}}$, мл/мин), вычисленной по формуле (1):

$$K_{\text{адс}} = \frac{2,3 \times \log P_0 / P_t}{B \times t} \quad (1)$$

где B – количество жизнеспособных холерных вибрионов, на которых происходит адсорбция, КОЕ/мл;

P_0 – исходный титр фага, БОЕ/мл;

P_t – титр фага через время t (число неадсорбированных фаговых частиц), БОЕ/мл.

Целью определения множественности инфекции являлось установление оптимального соотношения фаг / бактериальная клетка в жидкой питательной среде с целью получения максимальной концентрации фаговых частиц. Для этого в бульон Хоттингера pH $7,6 \pm 0,1$ засеивали бактериофаг и культуру холерных вибрионов в разных соотношениях. Начальная концентрация бактериофагов составила: для Rostov-13 – $5\text{--}9 \cdot 10^7$, для Rostov-M3 – $2\text{--}5 \cdot 10^6$ БОЕ/мл, для индикаторного штамма *V. cholerae* – $5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. Пробы отбирали через 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 4; 6 и 24 ч инкубирования при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и проверяли титр фага методом агаровых слоев.

Определение длительности латентного периода и урожайности бактериофагов осуществляли при найденном оптимальном значении множественности инфекции. В пробу с бульоном Хоттингера pH $7,6 \pm 0,1$ добавляли суспензию индикаторного штамма *V. cholerae* до конечной концентрации $5 \cdot 10^8$ КОЕ/мл и соответствующего бактериофага до конечной концентрации для Rostov-13 – $5\text{--}9 \cdot 10^7$, для Rostov-M3 – $2\text{--}5 \cdot 10^6$ БОЕ/мл, далее инкубировали при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ в течение определенного ранее времени адсорбции, затем центрифугировали в течение 2 мин при 4800 g на центрифуге MPW-251 (MPW Med, Польша). Удаляли супернатант и ресуспендировали осадок в 100 мл бульона Хоттингера pH $7,6 \pm 0,1$, далее титровали 0,5 мл суспензии по Грациа, принимая полученные результаты за начало определения (время 0 мин). Затем инкубировали в течение оптимального времени для накопления бактериофага в шейкере-инкубаторе ES-20/60 (Biosan, Латвия) при температуре $37 \pm 1^\circ\text{C}$ и 100 об./мин. Отбирали 0,5 мл полученной суспензии через разные промежутки времени и титровали методом агаровых слоев. Латентный период определяли как интервал минимального времени между адсорбцией фага на клетке-хозяине и освобождением новых фаговых частиц. Урожайность рассчитывали как отношение среднего максимального количества высвободившихся частиц в конце размножения к среднему значению фаговых частиц во время латентного периода.

Статистическую обработку результатов экспериментов осуществляли при помощи программ BioStat 2009 (Analyst-Soft, Inc., США) и Microsoft Excel 2016. Результаты представляли как средний титр бактериофага (среднее значение из 3–4 повторностей (n) и стандартное отклонение $M \pm SD$, округляя M до первого знака после запятой, SD – до второго знака после запятой).

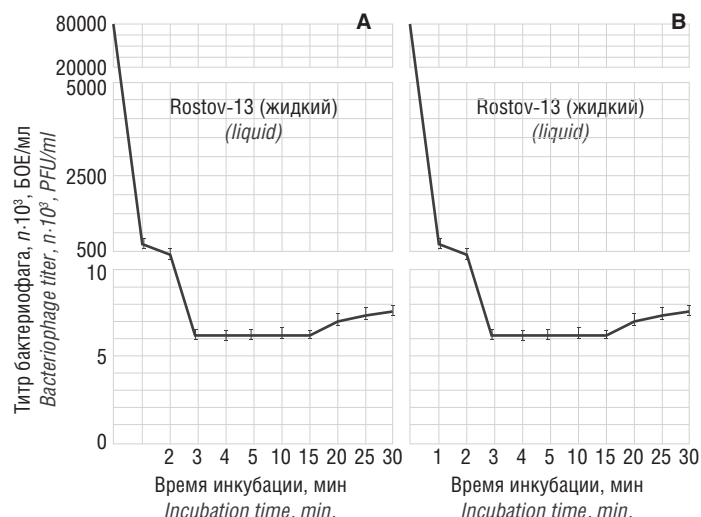


Рис. 1. Адсорбция бактериофага Rostov-13 ($n = 4$, $M \pm SD$): жидкая (А) и сухая (В) формы маточной культуры бактериофага.
 Fig. 1. Adsorption of the Rostov-13 bacteriophage ($n = 4$, $M \pm SD$): liquid (A) and dry (B) form of the uterine culture of the bacteriophage.

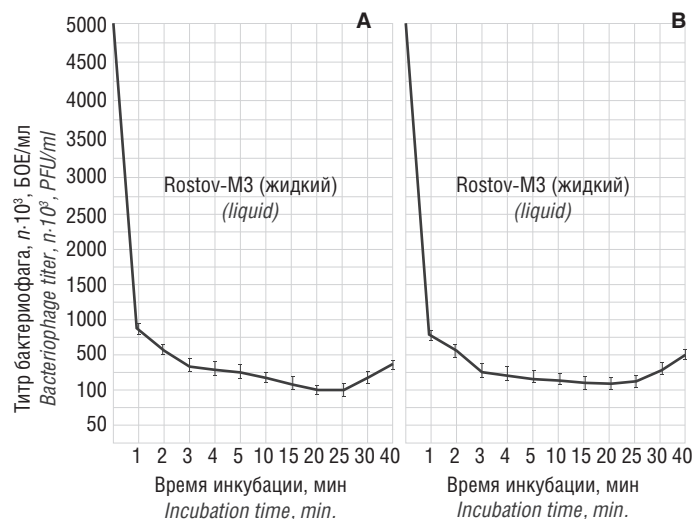


Рис. 2. Результаты определения скорости адсорбции бактериофага Rostov-M3 ($n = 4$, $M \pm SD$): жидкая (А) и сухая (В) формы маточной культуры бактериофага.
 Fig. 2. Results of determination of the adsorption rate of the Rostov-M3 bacteriophage ($n = 4$, $M \pm SD$): liquid (A) and dry (B) form of the uterine culture of the bacteriophage.

Результаты исследования и их обсуждение

Основными биологическими свойствами бактериофагов, которые определяют корректность организации технологического процесса накопления препарата, являются: скорость адсорбции; множественность инфекции и время репликативного цикла вируса; длительность латентного периода; урожайность (величина выхода фаговых частиц из одной инфицированной бактериальной клетки). При этом две последние характеристики являются обязательными согласно решению Евразийского экономического союза [8].

Определение скорости адсорбции бактериофагов

Результаты определения скорости адсорбции бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 представлены на рис. 1 и 2 соответственно.

Анализ данных показал, что при использовании как жидкой, так и сухой форм маточной культуры бактериофага Rostov-13 результаты практически не отличаются (рис. 1). При его взаимодействии с клетками *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa P-13169 за первые 2 мин адсорбируется >90% фаговых частиц у обеих форм препарата. В течение этого времени обнаружены незначительные различия по титру фагов: за 1-ю минуту данный показатель составил для жидкой формы – $6,5 \cdot 10^5$ БОЕ/мл, для сухой формы – $7,5 \cdot 10^5$ БОЕ/мл; по окончании 2-й минуты – $4 \cdot 10^5$ БОЕ/мл и $6 \cdot 10^5$ БОЕ/мл соответственно. Полная адсорбция фаговых частиц происходит в течение 15 мин у обеих форм препарата, после чего начинается медленное постепенное увеличение концентрации фаговых частиц. $K_{\text{адс}}$ составляет $1,2 \cdot 10^{-9}$ мл/мин для двух форм препарата.

В результате определения скорости адсорбции бактериофага Rostov-M3 (рис. 2) выявлено, что адсорбция >90% фаговых частиц с клетками *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa 20554 происходит в первые 2 мин их взаимодействия. За данный промежуток выявлены статистически незначимые различия по титру бактериофагов (за 1-ю минуту – $8 \cdot 10^5$ БОЕ/мл и $6 \cdot 10^5$ БОЕ/мл для жидкой и сухой форм соответственно, по окончании 2-й минуты – $7 \cdot 10^5$ БОЕ/мл и $5,5 \cdot 10^5$ БОЕ/мл). Полная адсорбция происходит в течение 30 мин (это выявлено у двух форм препарата), по истечении этого срока начинается медленное увеличение титра бактериофага. Вычисленное по

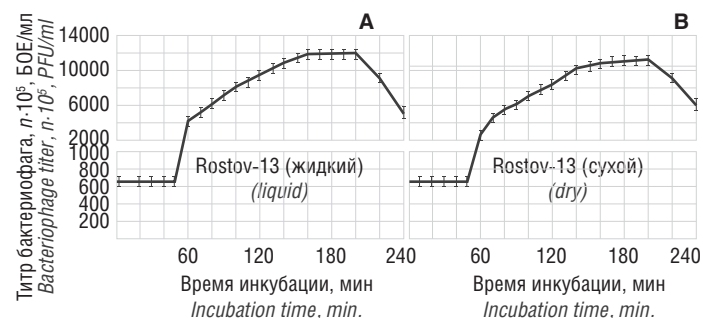


Рис. 3. Результаты определения длительности латентного периода бактериофага Rostov-13: при использовании жидкой (А) и сухой (В) формы маточной культуры бактериофага.
 Fig. 3. Results of determining the duration of the latency period of the Rostov-13 bacteriophage: when using the liquid (A) and dry (B) form of the uterine culture of the bacteriophage.

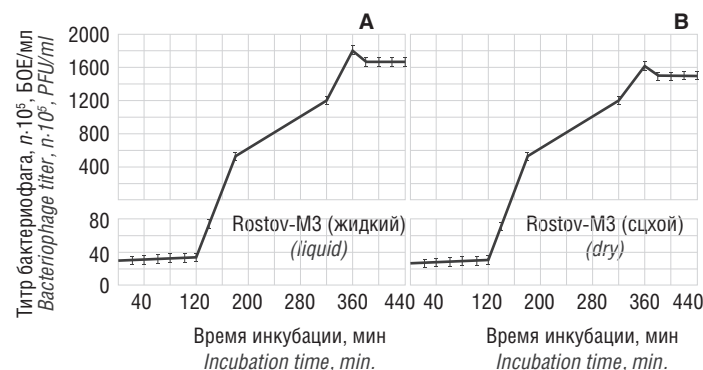


Рис. 4. Результаты определения длительности латентного периода бактериофага Rostov-M3: при использовании жидкой (А) и сухой (В) формы маточной культуры бактериофага.
 Fig. 4. Results of determining the duration of the latency period of the Rostov-M3: when using the liquid (A) and dry (B) form of the uterine culture of the bacteriophage.

Таблица. Результаты определения множественности инфекции фагов Rostov-13 и Rostov-M3
 Table. Results of determining the multiplicity of infection of the Rostov-13 and Rostov-M3 phages

Соотношение фаг/бактериальная клетка / The ratio phage/bacterial culture	Время инкубирования, ч / Incubation time, h	Фаг / Phage	Форма препарата / Preparation form	Внешний вид культуральной жидкости / appearance of culture liquid	Концентрация фага, БОЕ/мл (n = 3, M ± SD) / Phage concentration, PFU/mL (n = 3, M ± SD)
100:1	0,5 1	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,3 \pm 0,10 \times 10^3$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$9,5 \pm 0,00 \times 10^2$
		Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$5,1 \pm 0,17 \times 10^2$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$5,0 \pm 0,20 \times 10^2$
		Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,9 \pm 0,12 \times 10^5$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,7 \pm 0,25 \times 10^5$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$6,4 \pm 0,27 \times 10^3$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$6,2 \pm 0,10 \times 10^3$	
	1,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,2 \pm 0,12 \times 10^6$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,1 \pm 0,15 \times 10^6$
		Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$8,6 \pm 0,22 \times 10^3$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$8,5 \pm 0,22 \times 10^3$
		Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,4 \pm 0,17 \times 10^7$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,0 \pm 0,0 \times 10^7$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,2 \pm 0,15 \times 10^4$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,0 \pm 0,17 \times 10^4$	
	2,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,2 \pm 0,12 \times 10^7$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,4 \pm 0,24 \times 10^7$
		Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,7 \pm 0,10 \times 10^5$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,4 \pm 0,23 \times 10^5$
		Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,4 \pm 0,25 \times 10^7$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,8 \pm 0,10 \times 10^7$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,1 \pm 0,12 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$2,0 \pm 0,15 \times 10^5$	
3	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,9 \pm 0,22 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,7 \pm 0,27 \times 10^6$	
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,9 \pm 0,10 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$2,6 \pm 0,15 \times 10^5$	
	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	$4,5 \pm 0,22 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	$4,0 \pm 0,17 \times 10^6$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	$3,4 \pm 0,22 \times 10^5$		
	Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	$3,2 \pm 0,10 \times 10^5$		
24	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	$3,8 \pm 0,15 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	$2,9 \pm 0,22 \times 10^5$	
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	$3,2 \pm 0,14 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	$3,0 \pm 0,0 \times 10^5$	

формуле (1) значение константы скорости адсорбции $K_{адс}$ составляет $9,7 \cdot 10^{-9}$ мл/мин (для двух форм препарата).

Несмотря на незначительные, на наш взгляд, различия численных величин, полученные данные по динамике адсорбции фагов свидетельствуют о правильности их выбора для терапии и профилактики холеры. Это заключение основывается на мнении ряда исследователей, согласно которому бактериофаги, как кандидаты в терапевтические, должны в количестве не менее 70% адсорбироваться в первые 10 мин (у бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 адсорб-

ция >90% фаговых частиц происходит в течение 2 мин), а константа скорости адсорбции считается приемлемой, если составляет 10^{-8} – 10^{-9} мл/мин (у бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 данная характеристика определена как $1,2 \cdot 10^{-9}$ и $9,7 \cdot 10^{-9}$ мл/мин соответственно) [15, 16].

Определение множественности инфекции бактериофагов

Для определения множественности инфекции Rostov-13 и Rostov-M3 были использованы различные соотношения фаг/

Таблица. Продолжение.

Соотношение фаг/бактериальная клетка / The ratio phage/bacterial culture	Время инкубирования, ч / Incubation time, h	Фаг / Phage	Форма препарата / Preparation form	Внешний вид культуральной жидкости / appearance of culture liquid	Концентрация фага, БОЕ/мл (n = 3, M ± SD) / Phage concentration, PFU/mL (n = 3, M ± SD)
10:1	0,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$8,0 \pm 0,12 \times 10^2$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$7,2 \pm 0,15 \times 10^2$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$6,1 \pm 0,22 \times 10^3$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$6,0 \pm 0,12 \times 10^3$	
	1	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$6,8 \pm 0,25 \times 10^4$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$6,1 \pm 0,1 \times 10^4$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$5,5 \pm 0,20 \times 10^4$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$5,2 \pm 0,22 \times 10^4$	
	1,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$5,4 \pm 0,12 \times 10^5$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$4,8 \pm 0,12 \times 10^5$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$6,7 \pm 0,23 \times 10^4$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$6,4 \pm 0,17 \times 10^4$	
	2	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$7,0 \pm 0,1 \times 10^6$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$6,2 \pm 0,14 \times 10^6$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$7,2 \pm 0,10 \times 10^4$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$7,0 \pm 0,15 \times 10^4$	
	2,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,5 \pm 0,25 \times 10^7$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,1 \pm 0,14 \times 10^7$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$9,4 \pm 0,12 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$9,1 \pm 0,15 \times 10^5$	
	3	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,8 \pm 0,17 \times 10^7$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,2 \pm 0,0 \times 10^7$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,1 \pm 0,22 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,0 \pm 0,10 \times 10^6$	
4	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$4,6 \pm 0,15 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$4,3 \pm 0,17 \times 10^6$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	$1,8 \pm 0,15 \times 10^6$		
	Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	$1,6 \pm 0,00 \times 10^6$		
6	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	$2,7 \pm 0,27 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	$2,2 \pm 0,12 \times 10^6$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	$2,4 \pm 0,31 \times 10^6$		
	Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	$2,1 \pm 0,10 \times 10^6$		
24	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	$1,6 \pm 0,12 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	$1,2 \pm 0,15 \times 10^5$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	$2,0 \pm 0,22 \times 10^6$		
	Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	$1,9 \pm 0,14 \times 10^6$		

бактериальная клетка, а именно 100:1, 10:1, 1:1, 1:10, 1:100 и 1:200. Одновременно оценивали внешний вид культуральной жидкости, титр фага как для жидкой, так и лиофилизированной форм препаратов в различные промежутки времени – от 30 мин до 24 ч.

Анализ данных таблицы позволяет сделать следующие выводы. Численные значения множественности инфекции для бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 как в жидкой, так и сухой маточной культуре остаются практически одинаковыми. В течение 3 ч инкубации Rostov-13 количество фаговых частиц нарастает, достигая своего максимума к 3-му

часу. Это наблюдается при всех значениях множественности инфекции. Дальнейшее продолжение приводит к уменьшению концентрации БОЕ, уменьшению прозрачности культуральной жидкости вплоть до ее опалесценции.

Для Rostov-M3 выявлена отличная от Rostov-13 закономерность: начиная с 6-го часа инкубации происходит помутнение культуральной жидкости, продолжающееся вплоть до 24 ч (у Rostov-13 наблюдалась лишь легкая опалесценция), но при этом происходило повышение титра фага, достигающее максимума именно к 6-му часу инкубации. Дальнейшее продолжение инкубации приводит к уменьшению БОЕ и

Таблица. Продолжение.

Соотношение фаг/бактериальная клетка / The ratio phage/bacterial culture	Время инкубирования, ч / Incubation time, h	Фаг / Phage	Форма препарата / Preparation form	Внешний вид культуральной жидкости / appearance of culture liquid	Концентрация фага, БОЕ/мл (n = 3, M ± SD) / Phage concentration, PFU/mL (n = 3, M ± SD)
1:1	0,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$5,0 \pm 0,27 \times 10^9$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$4,8 \pm 0,15 \times 10^9$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$4,8 \pm 0,0 \times 10^4$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$4,5 \pm 0,12 \times 10^4$	
	1	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$7,0 \pm 0,12 \times 10^5$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$6,7 \pm 0,2 \times 10^5$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,2 \pm 0,12 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$2,1 \pm 0,15 \times 10^5$	
	1,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$3,4 \pm 0,17 \times 10^6$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$3,0 \pm 0,10 \times 10^6$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$3,4 \pm 0,22 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$3,2 \pm 0,17 \times 10^5$	
	2	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,8 \pm 0,15 \times 10^7$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$2,1 \pm 0,0 \times 10^7$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$3,9 \pm 0,20 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$3,7 \pm 0,17 \times 10^5$	
	2,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$8,9 \pm 0,15 \times 10^7$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$8,0 \pm 0,0 \times 10^7$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$5,0 \pm 0,27 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$4,9 \pm 0,12 \times 10^6$	
	3	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,2 \pm 0,15 \times 10^8$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$9,7 \pm 0,22 \times 10^7$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$6,5 \pm 0,12 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$6,3 \pm 0,15 \times 10^6$	
4	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$3,5 \pm 0,41 \times 10^7$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$3,0 \pm 0,12 \times 10^7$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	$7,3 \pm 0,10 \times 10^6$		
	Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	$7,0 \pm 0,17 \times 10^6$		
6	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	$3,1 \pm 0,15 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	$2,9 \pm 0,22 \times 10^6$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	$8,6 \pm 0,12 \times 10^6$		
	Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	$8,4 \pm 0,17 \times 10^6$		
24	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	$1,0 \pm 0,15 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	$9,3 \pm 0,0 \times 10^4$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Мутный / Cloudy	$8,2 \pm 0,10 \times 10^6$		
	Сухая / Dry	Мутный / Cloudy	$8,0 \pm 0,32 \times 10^6$		

сохранению мутности культуральной жидкости. Это наблюдается при всех значениях множественности инфекции.

Оптимально для Rostov-13 соотношение фаг / бактериальная клетка 1/100, время инкубации – 3 ч, при которых зафиксировано максимальное количество фаговых частиц – $1,34-1,2 \cdot 10^9$ БОЕ/мл, а для Rostov-M3: соотношение фаг / бактериальная клетка 1/100, время инкубации – 6 ч, при которых максимальное количество фаговых частиц составляет $2,0-1,8 \cdot 10^8$ БОЕ/мл. Полученные данные экспериментально обоснованных значений оптимальной множественности инфекции и продолжительности процесса инкубации

целесообразно использовать в технологии производства биологических препаратов, имеющих в своем составе холерные бактериофаги Rostov-13 и Rostov-M3.

Определение длительности латентного периода и урожайности бактериофагов

Латентный период бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 визуализирован на рис. 3 и 4 соответственно. Длительность латентного периода у фага Rostov-13 (рис. 3) составляет 50 мин как для жидкой, так и для сухой формы препарата. Среднее количество высвобождающихся фагов из одной хозяй-

Таблица. Продолжение.

Соотношение фаг/бактериальная клетка / The ratio phage/bacterial culture	Время инкубирования, ч / Incubation time, h	Фаг / Phage	Форма препарата / Preparation form	Внешний вид культуральной жидкости / appearance of culture liquid	Концентрация фага, БОЕ/мл (n = 3, M ± SD) / Phage concentration, PFU/mL (n = 3, M ± SD)
1:10	0,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,5 \pm 0,15 \times 10^4$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$2,2 \pm 0,17 \times 10^4$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$3,5 \pm 0,22 \times 10^4$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$3,3 \pm 0,25 \times 10^4$	
	1	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,8 \pm 0,10 \times 10^6$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,3 \pm 0,17 \times 10^6$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,2 \pm 0,17 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,2 \pm 0,10 \times 10^5$	
	1,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,0 \pm 0,15 \times 10^7$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$9,7 \pm 0,28 \times 10^6$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,8 \pm 0,25 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,4 \pm 0,0 \times 10^5$	
	2	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$5,6 \pm 0,17 \times 10^7$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$5,0 \pm 0,15 \times 10^7$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,2 \pm 0,20 \times 10^5$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$2,0 \pm 0,10 \times 10^5$	
	2,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$1,6 \pm 0,17 \times 10^8$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$1,1 \pm 0,12 \times 10^8$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$4,2 \pm 0,22 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$4,0 \pm 0,15 \times 10^6$	
	3	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$2,2 \pm 0,22 \times 10^8$
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$2,0 \pm 0,20 \times 10^8$
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	$5,0 \pm 0,33 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	$5,2 \pm 0,17 \times 10^6$	
4	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	$6,3 \pm 0,12 \times 10^7$	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	$6,1 \pm 0,0 \times 10^7$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	$8,4 \pm 0,15 \times 10^6$		
	Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	$8,0 \pm 0,22 \times 10^6$		
6	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	$4,6 \pm 0,10 \times 10^7$	
		Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	$4,1 \pm 0,15 \times 10^7$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Мутный / Cloudy	$1,2 \pm 0,22 \times 10^7$		
	Сухая / Dry	Мутный / Cloudy	$1,0 \pm 0,15 \times 10^7$		
24	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	$1,7 \pm 0,12 \times 10^6$	
		Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	$1,2 \pm 0,15 \times 10^6$	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Мутный / Cloudy	$1,1 \pm 0,15 \times 10^7$		
	Сухая / Dry	Мутный / Cloudy	$1,2 \pm 0,10 \times 10^7$		

ской клетки (урожайность) определено как 300 и 275 вирусных частиц для жидкого препарата и лиофилизата соответственно. На рис. 4 видно, что длительность латентного периода бактериофага Rostov-M3 составляет 120 мин как для жидкой, так и для сухой формы препарата. Урожайность определена как 50 и 55 вирусных частиц на одну бактериальную клетку для жидкого бактериофага и лиофилизата соответственно.

Полученные результаты показывают, что урожайность бактериофага Rostov-M3 ниже, чем у Rostov-13. Однако из монографии Васильева с соавт. следует, что для бактериофагов ряда бактерий урожайность в пределах от 50 до 240

вирусных частиц является допустимой при конструировании биопрепаратов [15]. Примерно такой же вывод был сделан при исследовании биологических и геномных характеристик фага Ec2-7 с антимикробной активностью против STEC-штаммов *Escherichia coli*. Авторы констатировали, что выход 56 ± 8 вирионов на клетку является достаточным для конструирования препарата на основе фага Ec2-7 с целью фаготерапии и биоконтроля *E. coli* [18].

Единое мнение об оптимальном значении длительности латентного периода для лечебно-профилактических бактериофагов среди исследователей отсутствует. На наш взгляд,

Таблица. Продолжение.

Соотношение фаг/бактериальная клетка / The ratio phage/bacterial culture	Время инкубирования, ч / Incubation time, h	Фаг / Phage	Форма препарата / Preparation form	Внешний вид культуральной жидкости / appearance of culture liquid	Концентрация фага, БОЕ/мл (n = 3, M ± SD) / Phage concentration, PFU/mL (n = 3, M ± SD)
1:100	0,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	1,5 ± 0,12 × 10 ⁵
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	1,1 ± 0,15 × 10 ⁵
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	6,9 ± 0,22 × 10 ⁴	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	6,6 ± 0,00 × 10 ⁴	
	1	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	2 ± 0,25 × 10 ⁷
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	1,8 ± 0,12 × 10 ⁷
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	7,5 ± 0,12 × 10 ⁵	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	7,2 ± 0,27 × 10 ⁵	
	1,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	1,9 ± 0,15 × 10 ⁸
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	1,4 ± 0,10 × 10 ⁸
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	2,9 ± 0,17 × 10 ⁶	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	2,8 ± 0,22 × 10 ⁶	
	2	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	3,5 ± 0,37 × 10 ⁸
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	3,3 ± 0,12 × 10 ⁸
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	4,3 ± 0,10 × 10 ⁶	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	4,0 ± 0,25 × 10 ⁶	
	2,5	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	8,6 ± 0,22 × 10 ⁸
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	8,4 ± 0,15 × 10 ⁸
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	3,2 ± 0,12 × 10 ⁷	
		Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	3,1 ± 0,22 × 10 ⁷	
	3	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	1,3 ± 0,10 × 10 ⁹
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	1,2 ± 0,00 × 10 ⁹
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	4,5 ± 0,27 × 10 ⁷	
		Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	4,0 ± 0,12 × 10 ⁷	
4	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	3,5 ± 0,10 × 10 ⁸	
		Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	3,1 ± 0,17 × 10 ⁸	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	6,8 ± 0,15 × 10 ⁷		
	Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	6,5 ± 0,22 × 10 ⁷		
6	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	5,1 ± 0,17 × 10 ⁷	
		Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	4,9 ± 0,22 × 10 ⁷	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Мутный / Cloudy	2,0 ± 0,25 × 10 ⁸		
	Сухая / Dry	Мутный / Cloudy	1,8 ± 0,15 × 10 ⁸		
24	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	2,2 ± 0,12 × 10 ⁶	
		Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	1,7 ± 0,27 × 10 ⁶	
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Мутный / Cloudy	8,4 ± 0,27 × 10 ⁷		
	Сухая / Dry	Мутный / Cloudy	8,0 ± 0,22 × 10 ⁷		
1:200	3	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Прозрачный / Transparent	2,2 ± 0,22 × 10 ⁷
			Сухая / Dry	Прозрачный / Transparent	2,0 ± 0,17 × 10 ⁷
	Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Опалесценция / Opalescence	8,6 ± 0,20 × 10 ⁵	
		Сухая / Dry	Опалесценция / Opalescence	8,3 ± 0,12 × 10 ⁵	
	6	Rostov-13	Жидкая / Liquid	Легкая опалесценция / Light opalescence	9,4 ± 0,33 × 10 ⁵
			Сухая / Dry	Легкая опалесценция / Light opalescence	9,8 ± 0,22 × 10 ⁵
Rostov-M3	Жидкая / Liquid	Мутный / Cloudy	5,8 ± 0,28 × 10 ⁶		
Сухая / Dry	Мутный / Cloudy	5,4 ± 0,22 × 10 ⁶			

здесь уместно процитировать мнение Manohar et al.: «... латентный период у терапевтических бактериофагов обычно составляет от 11 до 65 мин, при этом для эффективных литических фагов обычно требуется 30–60 мин» [19]. В контексте вышеизложенного обращает на себя внимание довольно высокое значение длительности латентного периода для Rostov-M3, составляющее 120 мин. Без сомнения, меньшая длительность латентного периода для лечебно-профилактических бактериофагов предпочтительнее в силу того, что чем раньше бактериофаг начнет освобождаться из инфицированной клетки, тем больше будет терапевтический эффект.

Относительно недавние исследования, проведенные Гаевской, выявили значения данной характеристики для 22 штаммов холерных бактериофагов от 60 до 72 мин [20]. Также необходимо отметить, что длительность латентного периода для фагов *Lactobacillus casei* (возбудителя язвы вульвы Липшютца) составляет от 100 до 220 мин [21].

На основании вышеизложенного мы считаем, что значения длительности латентного периода у бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 являются допустимыми для конструирования биопрепаратов.

Заключение

При определении скорости адсорбции у двух исследованных фагов установлены достаточно высокие значения, в частности, константы скорости адсорбции $K_{\text{адс}}$ колебались в пределах 10^{-9} мл/мин.

Оценка множественности инфекции показала, что для накопления бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 оптимальным является соотношение фаг / бактериальная культура 1:100. Эффективное время инкубации смеси, при котором получен максимальный титр, составляет 3 ч для Rostov-13 и 6 ч для Rostov-M3. Исследования длительности латентного периода и урожайности дают основание констатировать, что при таких показателях у фагов возможно их использование для конструирования биопрепаратов. Результаты, полученные при сравнении одиночного цикла развития жидких бактериофагов и их лиофилизатов, сопоставимы.

Таким образом, подтверждено, что лиофилизация является эффективным методом сохранения свойств фагов. Основным практически значимым итогом проведенных исследований является возможность увеличения «выхода» холерных бактериофагов Rostov-13 и Rostov-M3 на стадии их репродукции, в основном за счет экспериментально обоснованных значений оптимальной множественности инфекции. Немаловажное практическое значение также имеет определенное опытным путем эффективное время инкубации. Знание этих параметров играет значительную роль при разработке технологии производства лечебно-профилактических препаратов на основе бактериофагов. Существенным подспорьем при будущем возможном лицензировании производства являются полученные сведения о таких характеристиках, как длительность латентного периода и урожайность, знание которых является обязательным согласно Решению Евразийского экономического союза №89 от 3 ноября 2016 г. «Об утверждении правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза» [8]. Доказан-

ные достаточно высокая адсорбционная способность, довольно непродолжительный латентный период исследованных препаратов, наряду с другими ранее исследованными свойствами [21], должны позволить обеспечить их эффективность при терапевтическом применении.

Информация о финансировании

Исследование выполнено в рамках НИР 228-4-24 «Разработка экспериментального сочетанного лечебно-профилактического препарата против холеры на основе иммуноглобулинового комплекса и коктейля бактериофагов» (2024–2027 гг.) № гос. учета 124020200007-2.

Financial support

The study was carried out within the framework of research work 228-4-24 “Development of an experimental combined therapeutic and prophylactic drug against cholera based on an immunoglobulin complex and a cocktail of bacteriophages” (2024–2027 гг.) State Registration No 124020200007-2.

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. Холера. Эпидемиология, диагностика, клиника, лечение, профилактика (к 90-летию ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора): [монография]: для врачей-эпидемиологов, микробиологов и студентов медицинских вузов. Под ред. Поповой АЮ, Кутырева ВВ; Федер. служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. Ростов-на-Дону: Мини Тайп, 2024.
2. Гаевская НЕ, Кудрякова ТА, Македонова ЛД, Качкина ГВ, Алиева АА, Саямов СР. Отбор бактериофагов для лечения экспериментальной холеры, вызванной классическими холерными вибрионами. Современные наукоемкие технологии. 2004;3:11-15.
3. Тюрина АВ, Гаевская НЕ, Иванова ИА, Погожова МП, Сизова ЮВ, Филиппенко АВ, и др. Фармакокинетика и антимикробное действие экспериментального препарата на основе холерных бактериофагов на модели белых мышей. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А.Овчинникова. 2024;20(3):28-33.
4. Овчинникова МВ, Глазкова ЕА, Гумаюнова КС, Комиссаров АВ, Никифоров АК, Тюрина АВ, и др. Разработка экспериментального противохолерного препарата на основе бактериофагов, иммуноглобулина и энтеросорбента. Биотехнология. 2025;41(6):1-13. DOI: 10.56304/S0234275825060109
5. Распоряжение Правительства Российской Федерации от 16 августа 2024 г. №2214-р «О плане мероприятий на 2025–2030 гг. по реализации Стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на

- период до 2030 г.». Документы ленты ПРАЙМ: ГАРАНТ.РУ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/409448585/?ysclid=mm3f0sxd5719684998> (дата обращения: 26.06.2025).
6. Нежута АА, Сервис ЕС. Разработка научно-обоснованных режимов сублимационной сушки биопрепаратов. Биотехнология. 2001;6:59-67.
7. Семакова АП, Кудрявцева ОМ, Попова ПЮ, Комиссаров АВ, Микшис НИ. Стабилизация путем лиофилизации иммуногенных антигенов *Bacillus anthracis* в составе прототипа рекомбинантной вакцины против сибирской язвы. Биотехнология. 2017;33(3):57-65.
8. Решение Совета Евразийской экономической комиссии «Об утверждении Правил проведения исследований биологических лекарственных средств Евразийского экономического союза» от 03.11.2016 №89 (с изм. и допол. в ред. от 22.01.2025). Электронный фонд правовых и нормативнотехнических документов. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/456026116> (дата обращения: 06.08.2025).
9. Каттер Э, Сулаквелидзе А. Бактериофаги: Биология и практическое применение. Пер. с англ. коллектив переводчиков; науч. ред. Летаров АВ. М.: Научный мир, 2012.
10. Сinyaгина ЮВ, Овчинникова МВ, Зинина ОС, Гумаюнова КС, Никифоров АК. Современный обзор производства диагностических и лечебно-профилактических бактериофагов. Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю.А.Овчинникова. 2022;18(4):62-71.
11. Санитарные правила и нормы САНПИН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней». КонсультантПлюс [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_377388/dd6027e5f754deb456b92412779a367f72245983/ (дата обращения: 25.06.2025).
12. ОФС.1.7.1.0002.15. Общая фармакопейная статья. Бактериофаги (утв. и введена в действие Приказом Минздрава России от 31.10.2018 №749) («Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV издание. Том II») [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://meganorm.ru/mega_doc/norm/gosudarstvennaya-farmakopeya/2/ofs_1_7_1_0002_15_obshchaya_farmakopeynaya_statya.html?ysclid=mm3fj82vwn195910953 (дата обращения: 26.06.2025).
13. МР 4.2.0263-21 Методы работы с бактериофагами микроорганизмов I–IV групп патогенности – Информпроект Групп [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://informproekt.ru/docs/1304363785/?ysclid=mm3fmqyn3c327001330> (дата обращения: 26.06.2025).
14. Пименов НВ. Разработка средств и совершенствование методов лечения и профилактики сальмонеллеза птиц. Автореф. дисс. ... докт. биол. наук. М., 2012.
15. Разработка биотехнологических параметров создания бактериофаговых препаратов для деконтаминации микрофлоры, вызывающей порчу пищевого сырья животного происхождения и мясных, рыбных, молочных продуктов (биопроцессинг): научная монография. Васильев ДА, Феоктистова НА, Алешкин АВ, Золотухин СН, Мастиленко АВ, Киселева ИА, и др.; Министерство сельского хозяйства Российской Федерации, ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ. Ульяновск: Ульяновский ГАУ, 2019.
16. Bull JJ, Gill JJ. The habits of highly effective phages: population dynamics as a framework for identifying therapeutic phages. Front Microbiol. 2014 Nov 18;5:618. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00618
17. Levin BR, Stewart FM, Chao L. Resource-limited growth, competition and predation: a model and experimental studies with bacteria and bacteriophage. American Naturalist. 1977;97:3-24. DOI: 10.1086/283134
18. Зулькарнеев ЭР, Пименов НВ. Биологическая и геномная характеристика фага Eс2-7 с антимикробной активностью против STEC-штаммов *Escherichia coli*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2025;43(3):31-35. DOI: 10.17116/molgen20254303131
19. Manohar P, Tamhankar AJ, Lundborg CS, Nachimuthu R. Therapeutic Characterization and Efficacy of Bacteriophage Cocktails Infecting *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter* Species. Front Microbiol. 2019 Mar 21;10:574. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00574
20. Гаевская НЕ. Характеристика биологических свойств бактериофагов холерных и парагемолитических вибрионов. Дисс. ... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 2013.
21. Горина ВА. Проблемные вопросы биологии молочнокислых бактерий [монография]. Симферополь: «Таврия плюс», 2000.
22. Тюрина АВ. Основные аспекты разработки экспериментального профилактического препарата на основе холерных бактериофагов. Дисс. ... канд. биол. наук. М., 2025.

References

1. Cholera. Epidemiology, diagnostics, clinical features, treatment, prevention (on the 90th anniversary of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor): [monograph]: for epidemiologists, microbiologists and students of medical universities. Edited by Popova AYu, Kutryev VV; Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Wellbeing. Rostov-on-Don: Mini Type, 2024. (In Russian).
2. Gaevskaya NE, Kudryakova TA, Makedonova LD, Kachkina GV, Alieva AA, Sayamov SR. Selection of bakteriofags for treatment of an experimental cholera, caused classical cholera vibriions. Modern high-tech technologies. 2004;3:11-15. (In Russian).
3. Tyurina AV, Gaevskaya NE, Ivanova IA, Pogozhova MP, Sizova YuV, Filippenko AV, et al. Pharmacokinetics and antimicrobial action of an experimental drug based on cholera bacteriophages on a model of white mice. Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology n.a. Yu.A.Ovchinnikov. 2024;20(3):28-33. (In Russian).
4. Ovchinnikova MV, Glazkova EA, Gumayunova KS, Komissarov AV, Nikiforov AK, Tyurina AV, et al. Development of an experimental anti-cholera drug based on bacteriophages, immunoglobulin, and enterosorbent. Biotechnology. 2025;41(6):1-13. DOI: 10.56304/S0234275825060109 (In Russian).
5. Order of the Government of the Russian Federation dated 25.09.2017 № 2045-r «On approval of the Strategy for the Prevention of the Spread of Antimicrobial Resistance in the Russian Federation for the Period up to 2030 and the action plan for its implementation with a draft report to the President of the Russian Federation on this issue». (In Russian).
6. Nezhuta AA, Serbis ES. Development of scientifically based modes of freezedrying of biological products. Biotechnology. 2001;6:59-67. (In Russian).
7. Semakova AP, Kudryavtseva OM, Popova PYu, Komissarov AV, Mikshis NI. Stabilization by lyophilization of immunogenic antigens of *Bacillus anthracis*, as part of a prototype recombinant vaccine against anthrax. Biotechnology. 2017;33(3):57-65. (In Russian).
8. Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission "On approval of the Rules for conducting research on biological medicinal products of the Eurasian Economic Union" dated 03.11.2016 No 89 (as amended and supplemented on 22.01.2025). Electronic fund of legal and regulatory documents. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/456026116> (accessed 06.08.2025). (In Russian).
9. Katter E, Sulakvelidze A. Bacteriophages: Biology and practical application. – Trans. from English by a team of translators; scientific editor Letarov AV. M.: Scientific World, 2012. (In Russian).
10. Sinyagina YuV, Ovchinnikova MV, Zinina OS, Gumayunova KS, Nikiforov AK. A modern review of the production of diagnostic and therapeutic bacteriophages. Bulletin of Biotechnology and Physico-Chemical Biology n.a. Yu.A.Ovchinnikov. 2022;18(4):62-71. (In Russian).
11. Sanitary rules and regulations SANPIN 3.3686-21 "Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases". ConsultantPlus [Electronic resource]. Available at: https://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_377388/dd6027e5f754deb456b92412779a367f72245983/ (accessed 06/25/2025). (In Russian).

12. OFS.1.7.1.0002.15. General pharmacopoeial article. Bacteriophages (approved and put into effect by Order of the Ministry of Health of Russia dated October 31, 2018 No 749) (State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV edition. Volume II) [Electronic resource]. Available at: https://meganorm.ru/mega_doc/norm/gosudarstvennaya-farmakopeya/2/ofs_1_7_1_0002_15_obshchaya_farmakopeynaya_statya.html?ysclid=mm3fj82vwn195910953 (accessed June 26, 2025). (In Russian).
13. MR 4.2.0263-21 Methods of working with bacteriophages of microorganisms of pathogenicity groups I–IV – Informproekt Group [Electronic resource]. Available at: <https://informproekt.ru/docs/1304363785/?ysclid=mm3fmqyn3c327001330> (accessed 06/26/2025) (In Russian).
14. Pimenov NV. Development of means and improvement of methods for treatment and prevention of salmonellosis in birds. Diss. ... Doctor of Biological Sciences. M., 2012. (In Russian).
15. Development of biotechnological parameters for the creation of bacteriophage preparations for the decontamination of microflora causing spoilage of food raw materials of animal origin and meat, fish, dairy products (bioprocessing): scientific monograph. Vasil'ev DA, Feoktistova NA, Aleshkin AV, Zolotuhin SN, Mastilenko AV, Kiseleva IA, et al.; Ministry of Agriculture of the Russian Federation, Ulyanovsk State Agrarian University. Ulyanovsk: Ulyanovsk State Agrarian University, 2019. (In Russian).
16. Bull JJ, Gill JJ. The habits of highly effective phages: population dynamics as a framework for identifying therapeutic phages. *Front Microbiol.* 2014 Nov 18;5:618. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00618
17. Levin BR, Stewart FM, Chao L. Resource-limited growth, competition and predation: a model and experimental studies with bacteria and bacteriophage. *American Naturalist.* 1977;97:3-24. DOI: 10.1086/283134
18. Zulkarneev ER, Pimenov NV. Biological and genomic characterisation of phage Ec2-7 with antimicrobial activity against STEC strains *Escherichia coli*. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology.* 2025;43(3):31-35. DOI: 10.17116/molgen20254303131. (In Russian).
19. Manohar P, Tamhankar AJ, Lundborg CS, Nachimuthu R. Therapeutic Characterization and Efficacy of Bacteriophage Cocktails Infecting *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterobacter* Species. *Front Microbiol.* 2019 Mar 21;10:574. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00574
20. Gaevskaya NE. Characteristics of the biological properties of bacteriophages of cholera and parahemolytic vibrios. Diss. ... Cand. Medical Sciences. Rostov-on-Don, 2013. (In Russian).
21. Gorina VA. Problematic issues of biology of lactic acid bacteria [monograph]. Simferopol: Tavria Plus, 2000. (In Russian).
22. Tyurina AV. The main aspects of the development of an experimental preventive drug based on cholera bacteriophages. Diss. ... Cand. Biol. Sciences. M., 2025. (In Russian).
- Гумаюнова Кристина Сергеевна, научный сотрудник лаборатории диагностических препаратов ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-1341-3037
- Комиссаров Александр Владимирович, доктор биологических наук, профессор, заведующий отделом экспериментальных фармацевтических форм ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-1609-0384
- Овчинникова Мария Владимировна, кандидат биологических наук, заведующая отделом диагностических препаратов ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-1736-7453
- Гаевская Наталья Евгеньевна, кандидат медицинских наук, директор ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-0762-3628
- Тюрина Анна Владимировна, научный сотрудник лаборатории бактериофагов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-9359-3997
- Сизова Юлия Владимировна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории бактериофагов ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-7831-7767
- Иванова Инна Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории иммунологии ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-7068-4071

Information about co-authors:

Ekaterina A. Glazkova, Junior Research officer, Department of Experimental Pharmaceutical Forms, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-5959-3491

Kristina S. Gumayunova, Researcher, Laboratory of diagnostic drugs, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-1341-3037

Alexander V. Komissarov, PhD, DSc (Biological Sciences), Professor, Head of the Department of Experimental Pharmaceutical Forms, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-1609-0384

Maria V. Ovchinnikova, PhD in Biological Sciences, Head of the department, Russian Anti-Plague Institute "Microbe" of the Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-1736-7453

Natal'ja E. Gaevskaya, PhD, MD, Director, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-0762-3628

Anna V. Tyurina, research officer, Laboratory of bacteriophages, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-9359-3997

Yulia V. Sizova, PhD in Biological Sciences, leading Researcher, Laboratory of bacteriophages Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-7831-7767

Inna A. Ivanova, PhD in Biological Sciences, leading researcher officer, Laboratory of Immunology, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-7068-4071

Информация о соавторах:

Глазкова Екатерина Алексеевна, младший научный сотрудник отдела экспериментальных фармацевтических форм ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-5959-3491

Применение современных методов исследования для уточнения видовой аутентичности штаммов бактерий рода *Salmonella* из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора

Е.Ю.Агафонова, И.А.Касьян, Е.А.Нарышкина, Н.А.Шарапова, А.В.Фёдоров, Н.Е.Щербакова, А.В.Осин

ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация

Исторически классификация сальмонелл была основана на клинических признаках и особенностях поражения животных-хозяев (*Salmonella Typhi* – брюшной тиф, *Salmonella Choleraesuis* – холера свиней и т.д.). Но с развитием техник культивирования и идентификации микроорганизмов, совершенствования методов молекулярной биологии выяснилось, что многие виды сальмонелл обладают обширным адаптивным потенциалом, способны инфицировать различные организмы. Классический метод типирования сальмонелл – серотипирование – имеет ряд недостатков. В настоящее время начинают внедрять в работу новые подходы на основе анализа полных геномов (SeqSero2 и SISTR).

Целью работы являлось проведение расширенного изучения и номенклатурная ревизия штаммов бактерий рода *Salmonella*, поддерживаемых в коллекционном фонде Государственной коллекции патогенных бактерий (ГКПБ) ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб».

Материалы и методы. В работе было использовано 43 штамма бактерий рода *Salmonella* из фонда ГКПБ ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб». Штаммы были изучены с помощью биохимических, серологических, молекулярно-генетических методов.

Результаты и обсуждение. При комплексном и углубленном изучении штаммов было установлено новое таксономическое положение 4 штаммов – 2 штаммов *Shigella sonnei* и 2 штаммов *Morganella morganii*. Установлено наличие основных маркеров патогенности (гены *stn*, *invA*, *fimA*, *clyA*) и плазмиды вирулентности (*spvR/C*) у изученных штаммов бактерий рода *Salmonella*. Получены новые данные о свойствах штаммов сальмонелл из фонда ГКПБ и установлено таксономическое положение с учетом требований современной систематики.

Заключение. Уточнено таксономическое положение 4 штаммов, изначально неверно отнесенных к роду *Salmonella*. Установлены основные факторы патогенности изученных штаммов сальмонелл. Обновлены данные по биохимическим и серологическим характеристикам коллекционных штаммов бактерий рода *Salmonella*.

Ключевые слова: *Salmonella enterica*, типирование, геносеротипирование, коллекционная деятельность

Для цитирования: Агафонова Е.Ю., Касьян И.А., Нарышкина Е.А., Шарапова Н.А., Фёдоров А.В., Щербакова Н.Е., Осин А.В. Применение современных методов исследования для уточнения видовой аутентичности штаммов бактерий рода *Salmonella* из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. Бактериология. 2026; 11(1): 54–60. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-54-60

Application of modern research methods to clarify the species authenticity of collection strains of bacteria of the genus *Salmonella*

E.Yu.Agafonova, I.A.Kasyan, E.A.Naryshkina, N.A.Sharapova, A.V.Fedorov, N.E.Shcherbakova, A.V.Osin

Russian Anti-Plague Institute “Microbe”, Rospotrebnadzor, Saratov, Russian Federation

Для корреспонденции:

Агафонова Елена Юрьевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела Государственная коллекция патогенных бактерий ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора

Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46

Телефон: (8452) 51-52-13

E-mail: rusrapi@microbe.ru

ORCID: 0000-0001-9988-6312

Статья поступила 15.10.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Elena Yu. Agafonova, PhD in Biological Sciences, Researcher, Department of State Collection of Pathogenic Bacteria, Russian Anti-Plague Institute “Microbe” of Rospotrebnadzor

Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation

Phone: 8(8452)51-52-13

E-mail: rusrapi@microbe.ru

ORCID: 0000-0001-9988-6312

The article was received 15.10.2025, accepted for publication 30.03.2026

The classification of salmonella was based on clinical signs and characteristics of the host animal lesions (*Salmonella* Typhi – typhoid fever, *Salmonella* Choleraesuis – swine cholera, etc.). However, with the development of microorganism cultivation and identification techniques and the improvement of molecular biology methods, it became clear that many *Salmonella* species have extensive adaptive potential and are capable of infecting various organisms. The classical method of salmonella typing – serotyping – has a number of disadvantages. Currently, new approaches based on the analysis of complete genomes (SeqSero2 and SISTR) are being introduced into work.

The aim of the work was to conduct an extended study and nomenclature revision of the strains of bacteria of the genus *Salmonella* maintained in the collection fund of the State Collection of Pathogenic Bacteria (SCPB) of the Russian Anti-Plague Institute “Microbe”.

Materials and methods. The study involved 43 strains of *Salmonella* bacteria from the collection of the SCPB. The strains were studied using biochemical, serological, and molecular genetic methods.

Results and discussion. A comprehensive and in-depth study of the strains allowed us to establish a new taxonomic position for 4 strains: 2 *Shigella sonnei* strains and 2 *Morganella morganii* strains. The study revealed the presence of the main pathogenicity markers (*stn*, *invA*, *fimA*, *clyA* genes) and virulence plasmids (*spvR/C*) in the studied strains of *Salmonella* bacteria. New data were obtained on the properties of *Salmonella* strains from the SCPB and their taxonomic position was established taking into account the requirements of modern taxonomy.

Conclusions. The taxonomic position of 4 strains that were initially incorrectly assigned to the genus *Salmonella* was clarified. The main pathogenicity factors of the studied *Salmonella* strains were established. Updated data on biochemical and serological characteristics of collection strains of bacteria of the genus *Salmonella*.

Key words: *Salmonella enterica*, typing, geno-serotyping, collection activities

For citation: Agafonova E.Yu., Kasyan I.A., Naryshkina E.A., Sharapova N.A., Fedorov A.V., Shcherbakova N.E., Osin A.V. Application of modern research methods to clarify the species authenticity of collection strains of bacteria of the genus *Salmonella*. Bacteriology. 2026; 11(1): 54–60. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-54-60

Одним из важнейших направлений коллекционной деятельности является определение таксономической принадлежности штаммов и подтверждение их аутентичности, т.е. соответствие заявленных характеристик, указанных в паспорте, на момент поступления. Указанное в паспортах таксономическое положение штаммов определялось в момент идентификации и согласно нормам таксономии тех лет. Современная систематика бактерий достаточно динамична в связи с получением все более новых данных о штаммах. Исторически сложившийся процесс установления таксономической принадлежности штаммов микроорганизмов основан на изучении большого количества морфологических, культуральных, биохимических, антигенных свойств. Поэтому нередки случаи, когда штаммы, идентифицированные по фенотипическим свойствам как один вид, при более глубоком изучении оказывались иной видовой принадлежности. Так как выделение и описание некоторых штаммов микроорганизмов проводилось в первой половине XX века, сведения об их свойствах могут быть достаточно разрознены и не всегда стандартизированы.

Сальмонеллы исторически были классифицированы клинически как инвазивные (брюшнотифозные) и неинвазивные (нетифозные/небрюшнотифозные сальмонеллы) на

Family: Enterobacteriaceae

Genus: *Salmonella*

Species: *Salmonella bongori*

Species: *Salmonella subterranea*

Species: *Salmonella enterica*

Subspecies: *Salmonella enterica* subsp. *arizonae*

Salmonella enterica subsp. *diarizonae*

Salmonella enterica subsp. *enterica* (более 2600 сероваров)

Salmonella enterica subsp. *houtenae*

Salmonella enterica subsp. *indica*

Salmonella enterica subsp. *salamae*

основе предпочтений организма-хозяина и проявлений заболевания у людей. Каждый вид сальмонелл был назван в соответствии с клиническими проявлениями и специфичностью к организму хозяина, например, *Salmonella typhimurium* (мышинный тиф), *S. choleraesuis* (холера свиней), *S. abortusovis* (аборт овец), *S. abortusequi* (аборт лошадей). После того как было признано, что специфичность хозяина не существенна для многих видов сальмонелл, новые штаммы стали получать видовые названия в соответствии с местом выделения (*S. dublin*, *S. moscow*, *S. potsdam*). В 1988–1989 гг. Le Minor et Popoff, используя данные молекулярно-генетических исследований, показали, что род *Salmonella* состоит из видов *S. enterica*, *S. bongori* и *S. subterranea*, и превратили бывшие названия видов в серовары. Только к 2005 г. окончательно сложилась современная номенклатура рода *Salmonella* (рисунок) [1–4].

Однако названия наиболее часто встречающихся сероваров *Salmonella* настолько известны, что было бы нереалистично заменить их на антигенную формулу. Названия сероваров были сохранены только для подвида *enterica*, как наиболее распространенного.

Для сальмонелл золотым стандартом типирования является серотипирование с использованием специфических сывороток. Типирование проводят по стандартной схеме Кауффмана–Уайта–Ле-Минора (9-е издание, 2007 г.), определяя соматический O- и жгутиковый H-антигены. Несмотря на то, что серотипирование используется почти столетие и постоянно совершенствуется, метод имеет ряд недостатков. Это трудоемкость процесса и длительность его выполнения, необходимость иметь большое количество дорогостоящих сывороток, высокие требования к профессионализму и опыту исследователей, также сюда следует отнести встречаемость неагглютинабельных и монофазных штаммов сальмонелл [1, 5, 6].

В настоящее время пытаются внедрить в практику и совершенствовать процесс типирования штаммов сальмонелл на основе анализа данных полногеномного секвенирования, определяя различия в соматических и жгутиковых

Рисунок. Современная систематика бактерий рода *Salmonella* [4].
Fig. 1. Modern taxonomy of bacteria of the genus *Salmonella* [4].

Таблица 1. Список использованных в работе штаммов
 Table 1. List of strains used in the work

№	Наименование штамма / Strain name	Место/год выделения / Place/ year of allocation	Источник выделения / Source	№	Наименование штамма / Strain name	Место/год выделения / Place/ year of allocation	Источник выделения / Source
1	<i>S. abdominalis</i> M-29	Саратов / Saratov/1960	Человек / Human	23	<i>S. Paratyphi</i> B M-53	*	*
2	<i>S. abdominalis</i> M-30	Саратов / Saratov/1960	Человек / Human	24	<i>S. Paratyphi</i> B M-54	Саратов / Saratov/1966	Человек / Human
3	<i>S. Typhi abdominalis</i> M-31	Саратов / Saratov/1966	Человек / Human	25	<i>S. suipestifer</i> M-55	*	*
4	<i>S. Typhi abdominalis</i> M-32	Китай / China/*	*	26	<i>S. Enteritidis</i> M-57	*/1947	*
5	<i>S. Typhi abdominalis</i> M-33	Китай / China/*	*	27	<i>S. Dublin</i> M-59	*	*
6	<i>S. Typhi</i> M-34	Лондон / London/*	*	28	<i>S. Enteritidis</i> Danysz M-61	Лондон / London/*	*
7	<i>S. Typhi</i> M-35	Туркменская ССР/* Turkmen SSR/*	*	29	<i>S. suipestifer</i> M-86	Лондон / London/*	*
8	<i>S. Typhi</i> M-36	Лондон / London/*	*	30	<i>S. Enteritidis</i> Danysz M-518	*	*
9	<i>S. Typhi</i> M-37	Лондон / London/*	*	31	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhi M-747	*	*
10	<i>S. Typhimurium</i> M-38	Чита / Chita/1947	Тарбаган / Tarbagan marmot	32	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhimurium M-752	*	*
11	<i>S. Typhimurium</i> M-39	Чита / Chita/1947	Полевка Брандта / Brandt's vole	33	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Enteritidis M-765	Казань / Kazan/2013	Человек / Human
12	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhimurium M-42	Туркменская ССР / Turkmen SSR/*	*	34	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Abony M-767	*	*
13	<i>S. Breslau</i> M-43	*	*	35	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. London M-768	*	*
14	<i>S. Breslau</i> M-44	*/1943	*	36	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Paratyphi B M-769	*	*
15	<i>S. Breslau</i> M-45	*	*	37	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhi M-770	*	*
16	<i>S. Enteritidis</i> Gärtneri M-46	*	*	38	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Enteritidis M-774	*	*
17	<i>S. Enteritidis</i> Gärtneri M-47	*	*	39	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Virchow M-775	*	*
18	<i>S. morganii</i> M-48	Лондон / London/*	*	40	<i>S. enterica</i> subsp. <i>Enterica</i> ser. Gallinarum M-776	*	*
19	<i>S. morganii</i> M-49	*/1951	*	41	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Enteritidis M-777	*	*
20	<i>S. Paratyphi</i> A M-50	Лондон / London/*	*	42	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Typhi M-778	*	*
21	<i>S. Paratyphi</i> A M-51	Лондон / London/*	*	43	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> ser. Paratyphi A M-779	*	*
22	<i>S. Paratyphi</i> B M-52	*	*				

*нет данных / no data

детерминантах для определения серовара [5, 7]. Имеются открытые биоинформационные платформы, позволяющие с достаточно высокой точностью устанавливать серологическую характеристику штаммов. К такому программному обеспечению можно отнести платформу SeqSero2 [8] и ресурс типирования *Salmonella in silico* (SISTR) [9]. SISTR на данный момент внедрен в систему здравоохранения Канады как замена классическому серотипированию, в частности при исследовании вспышек и массовых заболеваний.

Таким образом, целью работы являлось проведение расширенного изучения и номенклатурная ревизия штаммов бактерий рода *Salmonella*, поддерживаемых в коллекционном фонде Государственной коллекции патогенных бактерий (ГКПБ) ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб».

Материалы и методы исследования

Бактериологические методы. В работе было использовано 43 штамма бактерий рода *Salmonella*, хранящихся в ГКПБ (табл. 1).

Микроорганизмы культивировали при 37°C в течении 24 ч на агаре Хоттингера pH 7,2. Биохимические свойства определяли с использованием тестов микрообъемной биохимической идентификации API20E (BioMérieux, Франция) в соответствии с инструкцией производителя. Учет результатов проводили с помощью сервиса APIWEBTM [10].

Серологические методы. Антигенную характеристику штаммов *Salmonella* spp. изучали согласно действующим методическим указаниям [11] с диагностическими адсорбированными поливалентными и моновалентными О- и Н-сыво-

ротками (ФГУП СПбНИИВС «ПЕТСАЛ», ЗАО «ЭКОлаб», Россия).

Масс-спектрометрия (MALDI-ToF MS). Видовую идентификацию микроорганизмов проводили на приборе Biotyper (Bruker, Германия). Подготовку образцов проводили согласно руководству пользователя [12].

Молекулярно-генетические методы. Выделение и очистку геномной ДНК проводили из бактериальной суспензии с использованием коммерческого набора EasyPure® Genomic DNA Kit (TransGen Biotech Co. Ltd., Китай) в соответствии с протоколом производителя. Предварительно исследуемый материал обрабатывали согласно нормативам [13].

Полногеномное секвенирование исследуемых штаммов осуществлялось на платформе MGI (DNBSEQ-G50RS, Китай) с использованием наборов для пробоподготовки (MGIEasy FS DNA Library Prep Set) и секвенирования ДНК (DNBSEQ-G50 High-throughput Sequencing Set, PE150). Контроль качества полученных прочтений проводился в программе fastp v. 0.24.0 [14], de novo сборка осуществлялась с помощью алгоритма unicycler v. 0.4.7 [15].

Биоинформационные методы. Поиск основных генетических детерминант патогенности был проведен с помощью программы Salmonella Analyzer [16] и Blast [17].

Геносеротипирование проводили с помощью ресурса SISTR [18] и платформы SeqSero2 [19].

Результаты исследования и их обсуждение

На первом этапе были верифицированы паспортные данные в отношении биохимических свойств. Для этого были использованы тесты микрообъемной биохимической идентификации API20E (BioMérieux, Франция). В результате выявлено, что 4 штамма не соответствуют биохимическому профилю бактерий рода *Salmonella* и относятся к видам *Morganella morganii* (2 штамма: M-48, M-49) и *Shigella sonnei* (2 штамма: M-29, M-30). Остальные 39 штаммов достоверно соотносились с биохимическим профилем *Salmonella* spp. (профиль идентичности 95–99%).

Штаммы, по биохимической активности отнесенные к морганеллам и шигеллам, были исследованы дополнительными методами (полногеномное секвенирование, MALDI-ToF MS, агглютинация с сыворотками). В результате комплексного анализа штаммы были достоверно отнесены к видам *S. sonnei* и *M. morganii*.

Далее штаммы сальмонелл агглютинировали с помощью групповых сывороток, и в результате они были соотнесены со следующими группами: 1 штамм был отнесен к серогруппе А, 12 – к серогруппе В, 6 – к серогруппе С, 16 – к серогруппе D. С поливалентной групповой сывороткой ABCDE агглютинировались 2 штамма, 2 штамма не агглютинировались ни с одной из сывороток.

В последние годы активно пытаются внедрять метод геносеротипирования на основе анализа полного генома бактерий, выявления различий в соматических и жгутиковых детерминантах для предсказания серовара. В настоящее время разработаны открытые биоинформационные платформы, позволяющие с достаточно высокой точностью установить серологическую характеристику штамма за счет анализа данных полногеномных нуклеотидных последова-

тельностей. К примеру, платформы SeqSero2 и ресурс типирования SISTR проводят серотипирование, анализируя нуклеотидную последовательность генов, кодирующих соматические и жгутиковые антигены. Если установить антигенную формулу невозможно из-за неполноты данных, то программа прогнозирует наиболее вероятный серотип

С помощью двух ресурсов для геносеротипирования (SISTR и SeqSero2) был проведен сравнительный анализ, а также сопоставление полученных результатов с заявленными в паспортах данными о сероварах (табл. 2).

3 штаммам (M-31, M-32, M-33) были изменены названия сероваров в соответствии с современной номенклатурой: с *S. Typhi abdominalis* на *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi*. 2 штамма (M-38 и M-39), по паспортным данным первоначально идентифицированные как серовар *Typhimurium*, не соответствовали его антигенной формуле, что было определено с помощью геносеротипирования. В итоге штаммы были отнесены к *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Bovismorbificans*. Аналогичная ситуация была и со штаммами *S. enteritidis* Gärtneri (M-46 и M-47), которые в соответствии с данными геносеротипирования были переименованы в *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Dublin*. Три штамма *S. breslau* (M-43, M-44 и M-45) были отнесены к *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhi* и *Typhimurium* в соответствии с корректной антигенной формулой. Штаммы *S. suipestifer* (M-55, M-86), идентифицированные по старой схеме Кауфмана–Уайта, на сегодняшний день именуются *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Choleraesuis*. Штаммы *S. enteritidis danysz* (M-61, M-518) были отнесены к двум разным сероварам: *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Enteritidis* (M-61) и *S. enterica* subsp. *enterica* serovar *Paratyphi B* (M-518). Стоит отметить, что программа SeqSero2 в сравнении с SISTR дает недостаточно полные данные по определению антигенной формулы и прогнозированию сероваров, определяет не все детерминанты антигенной формулы. Поэтому в некоторых случаях SeqSero2 не может точно определить предсказать серотип и требуется дополнительный анализ. Систематическое положение и соответствие серологии остальных 21 штамма сальмонелл соответствовали заявленным в их паспортах данным.

Нами было определено также наличие основных детерминант патогенности. Было выявлено, что 39 исследуемых штаммов сальмонелл несли гены энтеротоксина (*stn*), инвазина (*invA*), основной субъединицы фимбрин I типа (*fimA*). В 16 штаммах из 39 были определены маркеры плазмиды вирулентности, гены *spvR/C*, в 13 штаммах – генетический маркер цитолизина *clyA*, пороформирующего белка. По данным литературы [20, 21] известно, что присутствие гена цитолизина в геноме штаммов сальмонелл ассоциировано преимущественно с сероварами *Typhi* и *Paratyphi A*. В нашей выборке распределение по сероварам было следующим: 11 штаммов серовара *Typhi*, 1 – *Paratyphi A*, 1 – *London*.

Заключение

Таким образом, при комплексном и углубленном анализе установлено новое таксономическое положение 4 штаммов – 2 штаммов *S. sonnei* и 2 штаммов *M. morganii*.

Установлено наличие основных генетических детерминант патогенности у изученных штаммов сальмонелл (гены

Таблица 2. **Итоговые результат типирования штаммов *Salmonella* при использовании комплекса методов**
 Table 2. **Final results of typing of *Salmonella* strains using a set of methods**

Наименование штамма / Strain name	SeqSero2	SISTR	Серотипирование / Serotyping	Итог идентификации / Identification result
<i>S. Typhi</i> abdominalis M-31, M-32, M-33	Serovar Typhi 9:d:-	Serovar Typhi 9,12,[Vi]:d:- Серогруппа/Serogroup D1	Серогруппа / Serogroup D	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi
<i>S. Typhimurium</i> M-38, M-39	Serovar Bovismorbificans 8:r:1,5	Serovar Bovismorbificans 6,8,20:r:1,5 Серогруппа / Serogroup C2-C3	Серогруппа / Serogroup C	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Bovismorbificans
<i>S. Enteritidis</i> Gärtneri M-46, M-47	Serovar Dublin 9:g,p:-	Serovar Dublin 1,9,12[Vi]:g,p:- Серогруппа / Serogroup D1	Серогруппа / Serogroup D	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Dublin
<i>S. Breslau</i> M-43	Serovar Typhi 9:d:-	Serovar Typhi 9,12,[Vi]:d:- Серогруппа / Serogroup D1	Серогруппа / Serogroup D	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhi
<i>S. Breslau</i> M-44, M-45	Serovar Typhimurium 4:i:1,2	Serovar Typhimurium 1,4,[5],12:i:1,2 Серогруппа / Serogroup B	Серогруппа / Serogroup B	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium
<i>S. Paratyphi</i> A M-50, M-51	Serovar Paratyphi B 4:b:1,2	Serovar Paratyphi B 1,4,[5],12:b:1,2 Серогруппа / Serogroup B	Серогруппа / Serogroup B	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi B
<i>S. Paratyphi</i> B M-53	Serovar Typhimurium 4:i:1,2	Serovar Typhimurium 1,4,[5],12:i:1,2 Серогруппа / Serogroup B	Серогруппа / Serogroup B	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium
<i>S. Suipestifer</i> M-55, M-86	Paratyphi C/Choleraesuis/ Typhisuis*	Serovar Choleraesuis 6,7:c:1,5 Серогруппа / Serogroup C1	Серогруппа / Serogroup C	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Choleraesuis
<i>S. Enteritidis</i> Daysz M-61	Serovar Enteritidis/Gallinarum 9:g,m:-	Serovar Enteritidis 1,9,12:g,m:- Серогруппа / Serogroup D1	Культура не агглютинировалась / No agglutination	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis
<i>S. Enteritidis</i> Danysz M-518	***	Serovar Macclesfield/ Paratyphi B****	Серогруппа B /Serogroup B	<i>S. enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Paratyphi B

* серовары имеют общую формулу 7:c:1,5. Требуется дополнительный анализ! / Serovars have a general formula of 7:c:1.5. Further analysis is required!
 ** серовары имеют общую формулу 9:g,m:-. Требуется дополнительный анализ! / Serovars have a general formula of 9:g,m:-. Further analysis is required!
 *** Программа не может точно спрогнозировать серовар с данной антигенной формулой 9:g,m:1,2 / The program cannot accurately predict the serovar with the given antigen formula 9:g,m:1,2
 **** Невозможно точно предсказать серовар. Умеренное количество отсутствующих локусов cgMLST330 (n = 21 > 10). Найдено локусов cgMLST330 (n = 309). Сопоставлено только 215 локусов cgMLST330 (Мин. порог для уверенного прогноза серовара 297,0) / Cannot accurately predict serovar *Moderate number of cgMLST330 loci missing (n = 21 > 10). Number of cgMLST330 loci found (n = 309). Only matched 215 cgMLST330 loci. (Min threshold for confident serovar prediction from cgMLST is 297.0).

stn, *invA*, *fimA*, *clyA*), а также маркеры плазмиды вирулентности (*spvR/C*);

Были получены новые данные по биохимической активности, серотипам и геносеротипированию штаммов рода *Salmonella* из коллекции ГКПБ и установлено их таксономическое положение с учетом требований современной систематики.

Информация о финансировании

Исследование выполнено в рамках НИР 90-3-21 «Изучение молекулярных и биохимических характеристик штаммов возбудителей опасных инфекционных болезней из фонда Государственной коллекции патогенных бактерий (ГКПБ ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб») и разработка новых подходов для их паспортизации» (2021–2025 гг.).

Financial support

The study was carried out within the framework of research work 90-3-21 “Study of the molecular and biochemical characteristics of strains of pathogens causing dangerous infectious diseases from the State Collection of Pathogenic Bacteria (SCPБ Russian Anti-Plague Institute “Microbe”) and the development of new approaches for their certification” (2021–2025).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

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

- Grimont PAD, Weill FX. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO collaborating centre for reference and research on *Salmonella*. 2007;9:1-166.
- Brown EW, Bell R, Zhang G, Timme R, Zheng J, Hammack TS, et al. *Salmonella* Genomics in Public Health and Food Safety. EcoSal Plus. 2021, 9(2):eESP00082020. DOI: 10.1128/ecosalplus.ESP-0008-2020
- Naushad S, Ogunremi D, Huang H. *Salmonella*: a brief review. *Salmonella – Perspectives for Low-Cost Prevention, Control and Treatment*. Huang H, Naushad S, eds. 2023;1-22. DOI: 10.5772/intechopen.112948
- Genus: *Salmonella* [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://lpsn.dsmz.de/genus/salmonella> (дата обращения: 01.10.2025).
- Прунтова ОВ, Шадрова НБ. Современные методы индикации и дифференциации бактерий рода *Salmonella* (обзор литературы). Актуальные вопросы ветеринарной биологии. 2023;4(60):61-65. DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-61-65
- Кафтырева ЛА, Макарова МА, Матвеева ЗН, Полев ДЕ, Сайтова АТ, Жамборова МХ, и др. Первые находки монофазной *Salmonella* Typhimurium

- в Санкт-Петербурге. Проблемы медицинской микологии. 2023;25(3):3-9. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-3-9
7. Егорова СА, Кулешов КВ, Кафтырева ЛА. Современные методы субтипирования сальмонелл при расследовании вспышек сальмонеллеза. Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2019;3:36-42. DOI: 10/14427/jipai.2019.3.33
 8. Zhang S, den Bakker HC, Li S, Chen J, Dinsmore BA, Lane C, et al. SeqSero2: Rapid and Improved *Salmonella* Serotype Determination Using Whole-Genome Sequencing Data. Appl Environ Microbiol. 2019 Nov 14;85(23):e01746-19. DOI: 10.1128/AEM.01746-19
 9. Yoshida CE, Kruczkiewicz P, Laing CR, Lingohr EJ, Gannon VPJ, Nash JHE, et al. The *Salmonella In Silico* Typing Resource (SISTR): An Open Web-Accessible Tool for Rapidly Typing and Subtyping Draft *Salmonella* Genome Assemblies. PLoS ONE. 2016;11(1):e0147101. DOI: 10.1371/journal.pone.0147101
 10. apiweb™ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://apiweb.biomerieux.com/login> (дата обращения 01.07.2025 г.).
 11. Методические указания МУ 4.2.2723-10 «Лабораторная диагностика сальмонеллез, обнаружение сальмонелл в пищевых продуктах и объектах окружающей среды» (утв. Главным государственным санитарным врачом РФ 13 августа 2010 г.). Документы ленты ПРАЙМ: ГАРАНТ.РУ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/4091056/?ysclid=mmnd6jcdp2646835412> (дата обращения: 01.07.2025 г.).
 12. MALDI Biotyper 3.0 User Manual. Revision 1, January 2011. Bruker Daltonics GmbH.
 13. Методические указания МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности» (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом РФ 22 декабря 2009 г.). ГАРАНТ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://base.garant.ru/70180116/> (дата обращения: 01.07.2025 г.).
 14. Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. Bioinformatics. 2018 Sep 1;34(17):i884-i890. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty560
 15. Wick RR, Judd LM, Gorrie CL, Holt KE. Unicycler: Resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. PLoS Comput Biol. 2017 Jun 8;13(6):e1005595. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005595
 16. «Salmonella Analyzer» – программа для анализа данных полногеномного секвенирования *Salmonella* spp. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://antiplague.ru/scientific-activity/publication/salmonella-analyzer-programma-dlya-analiza-dannykh-polnogenomnogo-sekvenirovaniya-salmonella-spp/> (дата обращения 14.11.2024 г.).
 17. BLAST: Basic Local Alignment Search Tool [Electronic resource]. Режим доступа: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (дата обращения: 20.11.2024).
 18. GitHub – phac-nml/sistr_cmd: SISTR (*Salmonella In Silico* Typing Resource) command-line tool [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://github.com/phac-nml/sistr_cmd?tab=readme-ov-file#web-application (дата обращения: 28.05.2024).
 19. SeqSero2-*Salmonella* Serotyping by Whole Genome Sequencing [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.denglab.info/SeqSero2> (дата обращения: 17.11.2024).
 20. Krone L, Mahankali S, Geiger T. Cytolysin A is an intracellularly induced and secreted cytotoxin of typhoidal *Salmonella*. Nat Commun. 2024;15(1):8414. DOI: 10.1038/s41467-024-52745-0
 21. Oscarsson J, Westermark M, Löfdahl S, Olsen B, Palmgren H, Mizunoe Y, et al. Characterization of a pore-forming cytotoxin expressed by *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi A. Infect Immun. 2002;70(10):5759-69. DOI: 10.1128/IAI.70.10.5759-5769.2002

References

1. Grimont PAD, Weill FX. Antigenic formulae of the *Salmonella* serovars. WHO collaborating centre for reference and research on *Salmonella*. 2007;9:1-166.
2. Brown EW, Bell R, Zhang G, Timme R, Zheng J, Hammack TS, et al. *Salmonella* Genomics in Public Health and Food Safety. EcoSal Plus. 2021, 9(2):eESP00082020. DOI: 10.1128/ecosalplus.ESP-0008-2020
3. Naushad S, Ogunremi D, Huang H. *Salmonella*: a brief review. *Salmonella – Perspectives for Low-Cost Prevention, Control and Treatment*. Huang H, Naushad S, eds. 2023;1-22. DOI: 10.5772/intechopen.112948
4. Genus: *Salmonella* [Electronic resource]. Available at: <https://psn.dsmz.de/genus/salmonella> (accessed 01.10.2025).
5. Pruntova OV, Shadrova NB. Modern methods for *Salmonella* identification and differentiation (literature review). Actual Questions of Veterinary Biology. 2023;4(60):61-65. DOI: 10.24412/2074-5036-2023-4-61-65 (In Russian).
6. Kafyeva LA, Makarova MA, Matveeva ZN, Polev DE, Saitova AT, Zhamborova MKh, et al. The first findings of monophasic *Salmonella* Typhimurium in St. Petersburg. Problems in Medical Mycology. 2023;25(3):3-9. DOI: 10.24412/1999-6780-2023-3-3-9 (In Russian).
7. Egorova SA, Kuleshov KV, Kafyeva LA. Modern *Salmonella* subtyping methods in outbreak investigations. Immunopathology, allergology, infectology. 2019;3:36-42. DOI: 10/14427/jipai.2019.3.33 (In Russian).
8. Zhang S, den Bakker HC, Li S, Chen J, Dinsmore BA, Lane C, et al. SeqSero2: Rapid and Improved *Salmonella* Serotype Determination Using Whole-Genome Sequencing Data. Appl Environ Microbiol. 2019 Nov 14;85(23):e01746-19. DOI: 10.1128/AEM.01746-19
9. Yoshida CE, Kruczkiewicz P, Laing CR, Lingohr EJ, Gannon VPJ, Nash JHE, et al. The *Salmonella In Silico* Typing Resource (SISTR): An Open Web-Accessible Tool for Rapidly Typing and Subtyping Draft *Salmonella* Genome Assemblies. PLoS ONE. 2016;11(1):e0147101. DOI: 10.1371/journal.pone.0147101
10. apiweb™ [Electronic resource]. Available at: <https://apiweb.biomerieux.com/login> (accessed 01.07.2025 г.).
11. Methodological guidelines MU 4.2.2723-10 “Laboratory diagnostics of salmonellosis, detection of salmonella in food products and environmental objects” (approved by the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on August 13, 2010). Documents of the PRIME feed: GARANT.RU [Electronic resource]. Available at: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/4091056/?ysclid=mmnd6jcdp2646835412> (accessed 01.07.2025 г.). (In Russian).
12. MALDI Biotyper 3.0 User Manual. Revision 1, January 2011. Bruker Daltonics GmbH.
13. Methodological guidelines MU 1.3.2569-09 “Organization of work of laboratories using methods of nucleic acid amplification when working with material containing microorganisms of pathogenicity groups I–IV” (approved by the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation on December 22, 2009). GARANTEE [Electronic resource]. Available at: <https://base.garant.ru/70180116/> (accessed 01.07.2025). (In Russian).
14. Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. Bioinformatics. 2018 Sep 1;34(17):i884-i890. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty560
15. Wick RR, Judd LM, Gorrie CL, Holt KE. Unicycler: Resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. PLoS Comput Biol. 2017 Jun 8;13(6):e1005595. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005595
16. “Salmonella Analyzer” is a program for analyzing whole-genome sequencing data of *Salmonella* spp. [Electronic resource]. Available at: <https://antiplague.ru/scientific-activity/publication/salmonella-analyzer-programma-dlya-analiza-dannykh-polnogenomnogo-sekvenirovaniya-salmonella-spp/> (accessed 14.11.2024).
17. BLAST: Basic Local Alignment Search Tool [Electronic resource]. Available at: <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (accessed 20.11.2024).

18. GitHub – phac-nml/sistr_cmd: SISTR (*Salmonella In Silico* Typing Resource) command-line tool [Electronic resource]. Available at: https://github.com/phac-nml/sistr_cmd?tab=readme-ov-file#web-application (accessed 28.05.2024 г.).
19. SeqSero2-*Salmonella* Serotyping by Whole Genome Sequencing [Electronic resource]. Available at: <http://www.denglab.info/SeqSero2> (accessed 17.11.2024 г.).
20. Krone L, Mahankali S, Geiger T. Cytolysin A is an intracellularly induced and secreted cytotoxin of typhoidal *Salmonella*. *Nat Commun.* 2024;15(1):8414. DOI: 10.1038/s41467-024-52745-0
21. Oscarsson J, Westermarck M, Löfdahl S, Olsen B, Palmgren H, Mizunoe Y, et al. Characterization of a pore-forming cytotoxin expressed by *Salmonella enterica* serovars Typhi and Paratyphi A. *Infect Immun.* 2002;70(10):5759-69. DOI: 10.1128/IAI.70.10.5759-5769.2002

Информация о соавторах:

Касьян Ирина Александровна, старший научный сотрудник отдела Государственная коллекция патогенных бактерий ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-4998-7673

Нарышкина Екатерина Александровна, научный сотрудник лаборатории геномного и протеомного анализа ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-9190-099X

Шарапова Наталья Анатольевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории геномного и протеомного анализа ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-5289-7783

Фёдоров Андрей Витальевич, младший научный сотрудник лаборатории геномного и протеомного анализа ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-7190-4427

Щербаква Наталья Евгеньевна, научный сотрудник отдела диагностики инфекционных болезней ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-5308-0022

Осин Александр Владимирович, ведущий научный сотрудник, и.о. заведующего отделом Государственная коллекция патогенных бактерий ФКУН «Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-5308-0022

Information about co-authors:

Irina A. Kasyan, Senior Researcher, Department of «State Collection of Pathogenic Bacteria», Russian Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-4998-7673

Ekaterina A. Naryshkina, Researcher, Laboratory of genomic and proteomic analysis, Russian Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-9190-099X

Natalia A. Sharapova, PhD in Biological Sciences, Researcher, Laboratory of genomic and proteomic analysis, Russian Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-5289-7783

Andrey V. Fedorov, Junior Researcher, Laboratory of genomic and proteomic analysis, Russian Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-7190-4427

Natalia E. Shcherbakova, Researcher, Department of Diagnostics and Infectious Diseases, Russian Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-3261-6128

Alexandr V. Osin, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Head, Department of «State Collection of Pathogenic Bacteria», Russian Anti-Plague Institute «Microbe» of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-5308-0022

НОВОСТИ НАУКИ

Новый инструмент искусственного интеллекта может значительно ускорить открытие спасительных лекарств

Ученые в Китае представили новую систему искусственного интеллекта (ИИ), которая может ускорить открытие новых лекарств. DrugCLIP может проанализировать миллионы потенциальных соединений лекарств по отношению к тысячам белковых мишеней всего за несколько часов – в десять миллионов раз быстрее, чем существующие методы виртуального скрининга.

Несмотря на прогресс в области открытия лекарств, примерно 90% мишеней заболеваний, доступных для воздействия препаратами, по-прежнему не имеют терапии на основе малых молекул. Хотя виртуальный скрининг может ускорить идентификацию потенциальных соединений, традиционные методы, такие как молекулярная стыковка, остаются слишком медленными для приложений в масштабе всего генома. Авторы представляют DrugCLIP – структуру обучения с контрастированием, которая помещает карманы белков и малые молекулы в единое латентное пространство, что позволяет проводить виртуальный скрининг до 10 миллионов раз быстрее, чем при стыковке. Экспериментальная проверка подтвердила эффективность DrugCLIP, выявив сильные агонисты или ингибиторы для целевых белков, в некоторых случаях используя только структуры, предсказанные AlphaFold2. Открытая база данных скрининга около 10 000 человеческих белков против 500 миллионов молекул демонстрирует трансформационный потенциал таких подходов для открытия лекарств в масштабе всего генома в эпоху после AlphaFold.

DrugCLIP – это ультрабыстрый метод виртуального скрининга, который был тщательно проверен с помощью компьютерной оценки и лабораторных экспериментов. Его скорость позволяет проводить скрининг в масштабе триллионов соединений, охватывая весь человеческий протеом, доступный для фармакологического воздействия. Это открытый ресурс, который служит основой для открытия лекарств нового поколения, особенно для малоизученных мишеней.

Jia Y, Gao B, Tan J, Zheng J, Hong X, Zhu W, et al.

Deep contrastive learning enables genome-wide virtual screening. Science. 2026 Jan 8;391(6781):eads9530. DOI: 10.1126/science.ads9530



Сравнение и оптимизация методов оценки антагонистической активности штаммов пробиотиков нового поколения

О.А.Игнатьева¹, М.А.Волков¹, М.Н.Панькова¹, З.Е.Федец¹, А.В.Загайнова¹, Д.Ю.Побережный¹,
В.В.Даниэль¹, В.В.Макаров¹, В.В.Муравьева², А.Б.Гордеев², Т.В.Припутневич², В.С.Юдин¹,
А.А.Кескинов¹, Д.А.Каштанова¹, С.М.Юдин¹

¹ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью»
Федерального медико-биологического агентства России, Москва, Российская Федерация;

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии
им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

В последнее время значительный интерес исследователей направлен в сторону изучения микробиома и его роли для здоровья человека. Установлено, что многие патологические состояния ассоциированы с изменениями в профиле микробных сообществ, населяющих различные биотопы в нашем организме. Следовательно, весьма перспективным представляется использование пробиотических препаратов для предотвращения и коррекции различных заболеваний. Однако перед исследователями возникает достаточно сложная задача отбора наиболее перспективных штаммов и их комбинаций, обладающих максимальным терапевтическим потенциалом. Для скрининга и последующего отбора наиболее эффективных штаммов часто применяется оценка их антагонистической активности в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Этот подход позволяет сузить круг поиска и выбрать для дальнейшей работы лишь наиболее подходящие изоляты. Крайне важным является выбор метода анализа антагонизма, поскольку важно учитывать специфические особенности тестируемых изолятов, и не все доступные на сегодняшний день методики будут подходящими в каждом конкретном случае.

Целью данного исследования было сравнение нескольких методов оценки антагонистической активности на примере взаимодействия двух микроорганизмов – *Akkermansia muciniphila* и *Klebsiella pneumoniae*.

Материалы и методы. Для оценки антагонистической активности мы протестировали методы перпендикулярных штрихов, агаровых блоков, совместного культивирования на одной питательной среде, метод перевернутого агара, а также метод двухслойного агара.

Результаты. При использовании методик перпендикулярных штрихов и агаровых блоков нам не удалось обнаружить зон ограничения роста *K. pneumoniae*. Однако результаты экспериментов с применением совместного культивирования на одной питательной среде, а также методы перевернутого агара и двухслойного агара однозначно свидетельствовали о наличии антагонистической активности *A. muciniphila* в отношении *K. pneumoniae*. Вероятно, это связано с умеренным антагонистическим потенциалом исследуемого пробиотического микроорганизма, который невозможно зафиксировать с помощью техник, предполагающих лишь ограниченный контакт между тестируемыми штаммами. На наш взгляд, оптимальными способами выявления антагонизма в случае изучения *A. muciniphila* и, по всей вероятности, многих других пробиотических штаммов являются метод совместного культивирования и метод перевернутого агара. Именно эти методики в наших экспериментах продемонстрировали угнетение роста *K. pneumoniae* на средах с *A. muciniphila*, чего не удалось зафиксировать методами перпендикулярных штрихов и агаровых блоков.

Заключение. Мы предполагаем, что метод совместного культивирования и метод перевернутого агара подойдут для оценки антагонизма и других штаммов пробиотиков нового поколения со схожими свойствами.

Ключевые слова: пробиотики нового поколения, *Akkermansia muciniphila*, антагонизм, *Klebsiella pneumoniae*

Для цитирования: Игнатьева О.А., Волков М.А., Панькова М.Н., Федец З.Е., Загайнова А.В., Побережный Д.Ю., Даниэль В.В., Макаров В.В., Муравьева В.В., Гордеев А.Б., Припутневич Т.В., Юдин В.С., Кескинов А.А., Каштанова Д.А., Юдин С.М. Сравнение и оптимизация методов оценки антагонистической активности штаммов пробиотиков нового поколения. Бактериология. 2026; 11(1): 61–71. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-61-71

Comparison and optimization of methods for the assessment of antagonistic activity of next-generation probiotic strains

О.А.Игнатьева¹, М.А.Волков¹, М.Н.Панькова¹, З.Е.Федетс¹, А.В.Загайнова¹, Д.Ю.Побережный¹,
В.В.Даниэль¹, В.В.Макаров¹, В.В.Муравьева², А.Б.Гордеев², Т.В.Припутневич², В.С.Юдин¹,
А.А.Кескинов¹, Д.А.Каштанова¹, С.М.Юдин¹

Для корреспонденции:

Игнатьева Ольга Андреевна, кандидат биологических наук, аналитик отдела медицинской геномики ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» Федерального медико-биологического агентства России

Адрес: 119121, Москва, ул. Погодинская, 10, стр. 1
E-mail: olgnatieva@cspfmba.ru
ORCID: 0000-0003-2020-4206

Статья поступила 21.10.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Olga A. Ignatyeva, PhD in Biological Sciences, analyst in the Department of Medical Genomics, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency

Address: bld 1, 10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121, Russian Federation
E-mail: olgnatieva@cspfmba.ru
ORCID: 0000-0003-2020-4206

The article was received 21.10.2025, accepted for publication 30.03.2026

¹Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency, Moscow, Russian Federation;

²Kulakov National Medical Research Centre for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

The microbiome and its role in human health have been a significant area of focus. Changes in microbial communities inhabiting various biotopes in the body have been linked to numerous pathological processes. Therefore, the use of probiotics may be an advantageous approach to preventing and managing various diseases and conditions. However, the task of identifying the most effective strains and their optimal combinations, which deliver the greatest therapeutic benefits, presents certain challenges. One way of assessing the therapeutic potential of probiotics involves assessing the antagonistic activity of these strains against pathogenic and opportunistic microorganisms. This strategy helps to streamline the search process and facilitates the selection of the most suitable isolates for further investigation. It is critical to choose the appropriate techniques for assessing antagonistic properties, taking into consideration the specific characteristics of the isolates under examination, as not all available methods are suitable for this purpose. This approach narrows down the scope for search and helps select the most suitable isolates for further research. Choosing the most appropriate technique for assessing antagonistic properties is crucial, as it is essential to factor in the specific properties of the isolates being tested. Not all currently available techniques are suitable for this purpose.

Aim. This study aimed at comparing several techniques of assessing the antagonistic properties using two microorganisms, *Akkermansia muciniphila* and *Klebsiella pneumoniae*.

Materials and methods. The following techniques were tested: cross-streak method, agar blocks, co-cultivation on the same nutrient medium, inverted agar, and two-layer agar.

Results. Co-cultivation and the inverted agar were found to be the best techniques for assessing the antagonistic activity of probiotic strains. With these two methods, the growth of *K. pneumoniae* was inhibited on *A. muciniphila*-containing media, which could not be achieved by using the cross-streak method or agar blocks.

Conclusion. We hypothesize that the co-cultivation and inverted agar techniques could also be suitable for assessing the antagonistic activity of other next-generation probiotic strains with similar properties.

Key words: next-generation probiotics, *Akkermansia muciniphila*, antagonism, *Klebsiella pneumoniae*

For citation: Ignatyeva O.A., Volkov M.A., Pankova M.N., Fedets Z.E., Zagainova A.V., Poberezhniy D.Yu., Daniel V.V., Makarov V.V., Muravieva V.V., Gordeev A.B., Pripitnevich T.V., Yudin V.S., Keskinov A.A., Kashtanova D.A., Yudin S.M. Comparison and optimization of methods for the assessment of antagonistic activity of next-generation probiotic strains. Bacteriology. 2026; 11(1): 61–71. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-61-71

На сегодняшний день растущее внимание многих исследователей приковано к микробиоте человека, поскольку по мере развития науки в этой области мы все больше осознаем чрезвычайную важность населяющих наш организм микроорганизмов-комменсалов для здоровья всех органов и систем. Симбионты образуют крайне сложно организованные, саморегулируемые и относительно стабильные сообщества, включающие в себя сотни и тысячи различных видов бактерий, вирусов, грибов и архей [1, 2]. Сформировавшись в процессе длительной коэволюции, микроорганизмы способны не только успешно сосуществовать внутри этих сообществ, но и приносить значительную пользу организму-хозяину, участвуя в процессе пищеварения [3, 4], поддержании здоровья пищеварительного и дыхательного трактов [5, 6], оказывая значительное влияние на метаболизм [7], модулируя работу иммунной системы [8], обеспечивая защиту от патогенов [9].

В последнее время достоверно установлено, что дестабилизация микробиоты происходит при самых разных патологиях [10], и поэтому особо перспективными сейчас представляются исследования различных способов модуляции, корректировки микробных сообществ с помощью пробиотических препаратов. До недавнего времени в качестве таковых традиционно рассматривались несколько видов лакто- и бифидобактерий, однако в последнее время интерес микробиологов все больше смещается в сторону менее изученных, но, вероятно, не менее перспективных культур пробиотиков нового поколения, таких как *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Bacteroides fragilis* и др. В данном контексте актуализируются вопросы поиска перспективных штаммов пробиотических культур, оценки и сравнения их

эффективности и подбора наиболее активных комбинаций микроорганизмов, которые способны к синергии.

При наличии многих штаммов-кандидатов проверка их эффективности на животных моделях может оказаться весьма затруднительной из-за сложности, высокой стоимости и этических соображений. Необходим некий скрининговый метод, который позволил бы сузить круг поиска и из множества изолятов, потенциально обладающих пробиотическими свойствами, отбирать лишь наиболее перспективные, а уже на следующем этапе переходить к их изучению на эукариотических клетках и в животных моделях. В качестве такого метода вполне можно рассматривать оценку антагонистической активности. Многие из населяющих нас комменсалов способны проявлять бактериостатическую и даже бактерицидную активность в отношении широкого спектра микроорганизмов. Это достигается преимущественно за счет синтеза различных активных метаболитов, способных ингибировать рост других бактерий. Сюда относятся, к примеру, бактериоцины – специфические бактериальные пептиды с выраженной антимикробной активностью, различные органические кислоты, спирты, перекиси, хорошо знакомый лизоцим [11]. Оценка антагонистической активности штаммов-кандидатов часто применяют именно для скрининга, поскольку это относительно простой, быстрый и недорогой метод. Кроме того, изучение антагонизма может помочь в создании комбинированных пробиотиков, поскольку при этом необходимо учитывать взаимоотношения микроорганизмов в их составе. И, наконец, исследования антагонистической активности могут лежать в основе поиска новых антимикробных препаратов, что особенно актуально в свете постоянно растущей антибиотикорезистентности патогенов.

Однако перед исследователем всегда встает вопрос: какой метод лучше использовать для оценки антагонизма? На сегодняшний день описано множество различных методов и их вариаций, и далеко не всегда они дают стабильные результаты [12].

Целью данной работы было на примере взаимодействия двух микроорганизмов – *Akkermansia muciniphila* и *Klebsiella pneumoniae* – провести сравнение нескольких широко используемых методов оценки антагонистической активности с целью выбора оптимального (оптимальных), который наилучшим образом подходит для тестирования штаммов пробиотиков нового поколения.

Материалы и методы

Штаммы микроорганизмов и условия культивирования

В качестве пробиотического микроорганизма использовали штамм *A. muciniphila*, полученный из кала здоровой женщины в микробиологической лаборатории ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И.Кулакова» Минздрава России.

В качестве тест-культуры выбран штамм *K. pneumoniae* ATCC 700603 (взят из архива ФГБУ «ЦСП» ФМБА России), поскольку данный микроорганизм, во-первых, может расти как в аэробных, так и в анаэробных условиях, а во-вторых, неприхотлив и дает быстрый рост на разных питательных средах, в т.ч. и подходящих для *A. muciniphila*, что упрощает и создает больший простор для экспериментов по их совместному культивированию и изучению антагонизма.

В одном из экспериментов также использовали штамм *Roseburia faecis* (взят из архива ФГБУ «ЦСП» ФМБА России) в качестве тест-культуры вместо *K. pneumoniae* для того, чтобы проверить обеднение питательной среды при оценке метода перевернутого агара.

Для культивирования штаммов использовали агаровую среду Шедлера (АШ) (HiMedia, Индия) и мясопептонный агар (МПА) (ООО «НПЦ Химикон», Россия). Культивирование проводилось как в аэробных, так и в строго анаэробных условиях в атмосфере трехкомпонентной газовой смеси (N_2 – 80%; CO_2 – 10%; H_2 – 10%) в анаэробной станции Vactron (в зависимости от дизайна конкретного эксперимента).

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом перпендикулярных штрихов (cross-streak) [13]

На поверхность АШ в чашке Петри высевали культуру *A. muciniphila* одним сплошным штрихом от одного края чашки до другого с помощью бактериологической петли. Далее инкубировали в анаэробной станции Vactron при +37°C до момента посева тестового микроорганизма, который осуществляли ежедневно в течение 7 дней культивирования монокультуры *A. muciniphila*. Подсев *K. pneumoniae* осуществляли путем нанесения трех штрихов, перпендикулярных изначальному штриху *A. muciniphila*, после чего вновь инкубировали чашки при +37°C, но в двух вариантах: анаэробно в станции Vactron и аэробно в термостате, кроме варианта одномоментного засева двух микроорганизмов. Каждый вариант эксперимента выполняли в двух повторах.

Разные сроки культивирования *A. muciniphila* (до посева культуры *K. pneumoniae*) применяли для оценки влияния возраста культуры и определения необходимой длительности культивирования для проявления антагонистической активности. Анаэробный и аэробный варианты культивирования тестового штамма использовали для уточнения потенциальных механизмов, лежащих в основе возможной антагонистической активности двух микроорганизмов. Поскольку *A. muciniphila* является строгим анаэробом, то после перемещения ее в аэробные условия при посеве тестового штамма активность пробиотической культуры, очевидно, будет практически полностью подавляться кислородом, а антагонистическая активность (при наличии) будет определяться продуктами метаболизма. В случае же анаэробного культивирования можно предположить реакцию живых клеток *A. muciniphila* на присутствие *K. pneumoniae* и, следовательно, возможную реализацию/индукцию других механизмов, обуславливающих бактериостатические свойства.

Для количественной оценки антагонистической активности предполагалось измерение размеров зон ингибирования роста тестового микроорганизма с обеих сторон от штриха пробиотической культуры. В качестве отрицательного контроля использовали физраствор, который наносили на АШ вместо культуры *A. muciniphila*. В качестве положительного контроля использовали раствор антибиотика цефтазидима в концентрации 5 мкг/мл, который также наносили на поверхность агаровой среды вместо *A. muciniphila*.

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом агаровых блоков

На всю поверхность АШ в чашке Петри высевали культуру *A. muciniphila* для получения сплошного газона пробиотической культуры. Далее чашки инкубировали при +37°C в анаэробных условиях в станции Vactron в течение 5 суток. Полученный газон пробиотической культуры использовали для подготовки агаровых блоков. Для этого с помощью стерильных наконечников для пипетки аккуратно, используя широкий конец наконечника, вырезали небольшие кусочки агара с культурой на поверхности. Вторую часть эксперимента проводили на чашках Петри с МПА, куда газоном засекали тестовую культуру *K. pneumoniae*. Сразу после засева на каждую чашку с МПА выкладывали по 6 ранее подготовленных агаровых блоков с культурой *A. muciniphila*, после чего инкубировали в течение 24 ч при +37°C в двух вариантах: анаэробно (в станции Vactron) и аэробно (в термостате). Каждый вариант эксперимента выполняли в двух повторах. В качестве отрицательного контроля использовали агаровые блоки со стерильным АШ (без газона *A. muciniphila*), в качестве положительного контроля – агаровые блоки с АШ с добавлением цефтазидима в концентрации 5 мкг/мл.

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом прямого совместного культивирования

На половину поверхности АШ в чашке Петри осуществляли посев культуры *A. muciniphila* для получения сплошного газона. Чашки инкубировали в течение 5 суток при +37°C в анаэробных условиях. После этого осуществляли посев тестового организма на свободную половину чашки, инкуби-

ровали еще сутки при +37°C в анаэробных условиях. Эксперимент выполнялся в трех повторностях.

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом перевернутого агара [12]

На всю поверхность АШ в чашке Петри осуществляли посев культуры *A. muciniphila* для получения сплошного газона. Далее чашки инкубировали при +37°C в анаэробных условиях в станции Vactron в течение 3, 5 или 7 суток. По истечении заданного периода культивирования агар с газоном пробиотической культуры переворачивали и на обратную сторону осуществляли подсев *K. pneumoniae* методом секторного посева по Gold [12]. Далее чашки инкубировали при +37°C в течение суток в двух вариантах: анаэробно (в станции Vactron) и аэробно (в термостате). Каждый вариант эксперимента выполняли в двух повторах.

Как и в эксперименте с перпендикулярными штрихами, мы применяли разные сроки культивирования пробиотической культуры (3, 5 или 7 суток) для изучения влияния возраста культуры на ее антагонистические свойства, а также разные варианты культивирования (анаэробное и аэробное) для наилучшего понимания механизмов антагонизма.

В качестве отрицательного контроля использовали стерильный АШ без газона пробиотической культуры (для которого выполняли аналогичные манипуляции), а в качестве положительного контроля – АШ с добавлением цефтазидима в концентрации 5 мкг/мл. Оценка антагонистической активности проводилась по количеству выросших колоний *K. pneumoniae* в разных секторах.

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом двухслойного агара [12]

В данной группе экспериментов мы использовали глубинное культивирование пробиотического микроорганизма в толще АШ, на который настилали МПА для последующего посева тестовой культуры. К 9 мл теплого (но не горячего) расплавленного АШ добавляли 1 мл суспензии *A.*

muciniphila в физиологическом растворе, соответствующей 5 единицам по шкале МакФарланда, тщательно перемешивали и заливали в чашку Петри. После застывания АШ на его поверхность настилали 10 мл расплавленного и охлажденного до 50°C МПА, дожидались застывания. Таким образом получали двухслойный агар, в нижнем слое которого в толщу среды засеяна пробиотическая культура. Далее чашки с двухслойным агаром оставляли на 3 или 5 суток для роста *A. muciniphila*. Культивирование осуществляли как в анаэробных, так и в аэробных условиях (предполагая, что при выращивании *A. muciniphila* в толще среды даже в аэробных условиях можно получить рост). Через предусмотренный промежуток времени (3 или 5 суток) на верхний слой среды МПА засеивали свежую культуру *K. pneumoniae* по методу Gold для возможности количественной оценки. Далее чашки инкубировали при +37°C в течение суток в двух вариантах: анаэробно (в станции Vactron) и аэробно (в термостате). Каждый вариант эксперимента выполняли в двух повторах. Варианты культивирования представлены в таблице.

В качестве отрицательного контроля использовали стерильный АШ без добавления в толщу среды пробиотической культуры, в качестве положительного контроля – АШ с добавленным цефтазидимом в концентрации 5 мкг/мл. Оценка антагонистической активности проводилась по количеству выросших колоний *K. pneumoniae* в разных секторах.

Результаты исследования и их обсуждение

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом перпендикулярных штрихов (cross-streak)

При учете результатов нам не удалось детектировать антагонизм *A. muciniphila* в отношении *K. pneumoniae* ни на одной из чашек. Ни сроки культивирования, ни разные его варианты после посева тестовой культуры (анаэробное или аэробное культивирование) не влияли на результат. На всех чашках фиксировался хороший рост *K. pneumoniae* в непо-

Таблица. Варианты культивирования при оценке антагонистической активности *A. muciniphila* в отношении *K. pneumoniae* методом двухслойного агара

Table. Variants of cultivation in the two-layer agar test for assessing antagonistic activity of *A. muciniphila* against *K. pneumoniae*

Вариант / Variant	Первый этап / First stage	Второй этап (подсев) / Second stage (inoculation of the test microorganism)
	Культивирование <i>A. muciniphila</i> / Cultivation of <i>A. muciniphila</i>	Культивирование <i>K. pneumoniae</i> / Cultivation of <i>K. pneumoniae</i>
1	В толще АШ, анаэробно / In Schaedler agar; anaerobic	На поверхности МПА, анаэробно / On the surface of meat peptone agar; anaerobic
2	В толще АШ, анаэробно / In Schaedler agar; anaerobic	На поверхности МПА, аэробно / On the surface of meat peptone agar; aerobic
3	В толще АШ, аэробно / In Schaedler agar; aerobic	На поверхности МПА, аэробно / On the surface of meat peptone agar; aerobic

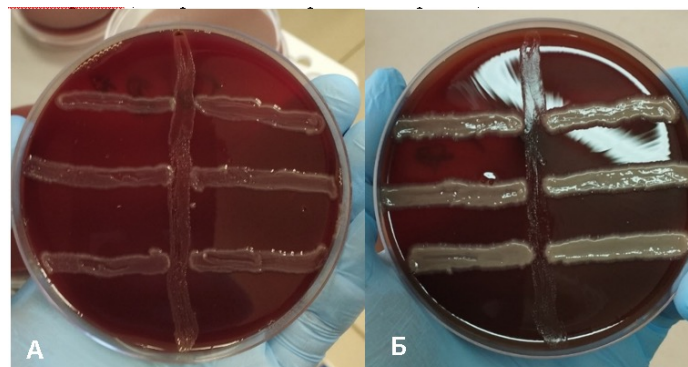


Рис. 1. Агар Шедлера с суточной культурой *K. pneumoniae* (три горизонтальных штриха), которая подсеивалась к пятидневной культуре *A. muciniphila* (вертикальный штрих). Аэробное (А) и аэробное (Б) культивирование после посева *K. pneumoniae*. Ограничения роста *K. pneumoniae* не наблюдается.

Fig. 1. Schaedler agar with a 24-hour culture of *K. pneumoniae* (three horizontal streaks), which was inoculated onto a 5-day culture of *A. muciniphila* (vertical streak). Aerobic (A) and aerobic (B) cultivation after inoculation of *K. pneumoniae*. No growth restriction of *K. pneumoniae* was observed.

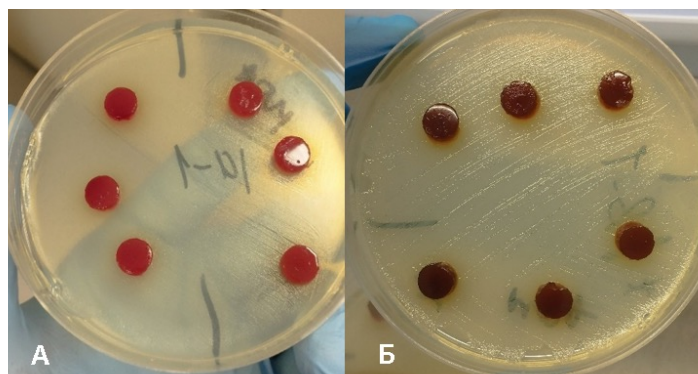


Рис. 2. Мясопептонный агар с суточной культурой *K. pneumoniae* и агаровыми блоками с пятидневным газоном *A. muciniphila*. Аэробное (А) и аэробное (Б) культивирование. Фиксируется сплошной рост *K. pneumoniae*, зон ограничения роста вокруг агаровых блоков нет.

Fig. 2. Meat-peptone agar with a 24-hour culture of *K. pneumoniae* and agar blocks with a five-day lawn of *A. muciniphila*. Aerobic (A) and aerobic (B) cultivation. Continuous growth of *K. pneumoniae* is observed; there are no growth restriction zones around the agar blocks.

средственной близости от штриха *A. muciniphila*. Зон лизиса ни в одной из повторностей выявлено не было. В качестве примера на рис. 1 представлены результаты метода перпендикулярных штрихов, где подсев *K. pneumoniae* осуществляли к пятидневной культуре *A. muciniphila* (анаэробный и аэробный варианты).

Кроме того, мы не наблюдали зон лизиса и в положительном контроле, где вместо штриха на среду наносили раствор цефтазидима. Вероятнее всего, это связано с ограниченностью зоны нанесения антибиотика (в виде одной узкой полосы) и особенностями его диффузии в плотной питательной среде, что не дало возможности достигнуть концентрации, способной ограничить рост *K. pneumoniae*.

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом агаровых блоков

Метод агаровых блоков также не продемонстрировал наличия какой-либо антагонистической активности *A. muciniphila* в отношении *K. pneumoniae*. Ни на одной из чашек не наблюдалось зон ограничения роста вокруг наложенных на МПА агаровых блоков с газоном *A. muciniphila* (рис. 2).

Важно отметить, что использование агаровых блоков с цефтазидимом в качестве положительного контроля также не дало никаких видимых зон лизиса. Вероятнее всего, это связано с весьма ограниченной диффузией как антибиотика в контроле, так и бактериостатических веществ, потенциально синтезируемых *A. muciniphila* в среду, на которой выращивали тестовый микроорганизм. Небольшая площадь агаровых блоков и недостаточно тесный контакт двух питательных сред (МПА и АШ) в зоне их взаимодействия, по-видимому, определили полученные нами результаты.

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом прямого совместного культивирования

При оценке антагонистической активности *A. muciniphila* в отношении *K. pneumoniae* данным методом мы обнаружили

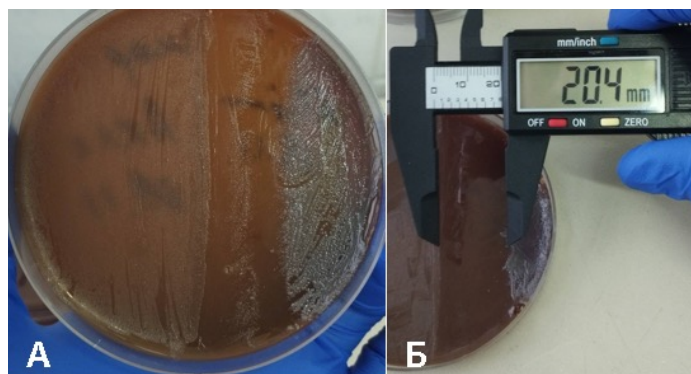


Рис. 3. Агар Шедлера с суточной культурой *K. pneumoniae* (справа), которая засеивалась на среду с пятидневным газоном *A. muciniphila* (слева). Анаэробное культивирование. Фиксируется значительное угнетение роста *K. pneumoniae*. Общий вид чашки с двумя культурами (А) и измерение зоны лизиса (Б).

Fig. 3. Schaedler agar with a 24-hour *K. pneumoniae* culture (right) inoculated onto a medium containing a 5-day-old *A. muciniphila* lawn (left). Anaerobic cultivation. Significant inhibition of *K. pneumoniae* growth is observed. General view of the plate with two cultures (A) and measurement of the lysis zone (B).

достаточно серьезное угнетение роста тестового штамма пробиотической культурой (рис. 3). Зона лизиса в среднем составляла от 14 до 20 мм.

Данная методика была первой, с помощью которой нам удалось зафиксировать наличие антагонизма между изучаемыми штаммами, поэтому для дальнейшего изучения антагонизма исследуемых культур мы предпочли методики с засевом больших площадей питательных сред пробиотическими штаммами. Вероятнее всего, *A. muciniphila* способна демонстрировать свои бактериостатические свойства *in vitro* только при достижении определенной плотности колоний на поверхности среды и/или выделения достаточного количества метаболитов в среду для культивирования. В методиках перпендикулярных штрихов и агаровых блоков такие условия для этого микроорганизма не создаются. *A. muciniphila*, по всей видимости, не обладает сверхвысокими антагонизмом в отношении *K. pneumoniae*, который может демонстрироваться некоторыми другими, более «сильными» видами бактерий и грибов, продуцирующими высокоактивные бактериоцины или другие угнетающие рост метаболиты. Для таких микроорганизмов методы штрихов и агаровых блоков будут вполне подходящими. А для более «слабых» в антагонистическом плане пробиотических штаммов целесообразно сделать выбор в пользу других методов. В целом наши предположения подтвердились в последующих экспериментах, которые описаны ниже.

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом перевернутого агара

Данный метод позволил нам зафиксировать полное угнетение роста на средах с газоном *A. muciniphila*. При этом возраст пробиотической культуры не оказывал влияния на антагонистические свойства (либо его влияние невозможно зафиксировать в рамках текущего эксперимента), поскольку уже трехдневная *A. muciniphila* полностью подавляла рост *K. pneumoniae*. Не оказывало влияние и отсутствие/наличие кислорода после подсева тестового микроорганизма: во

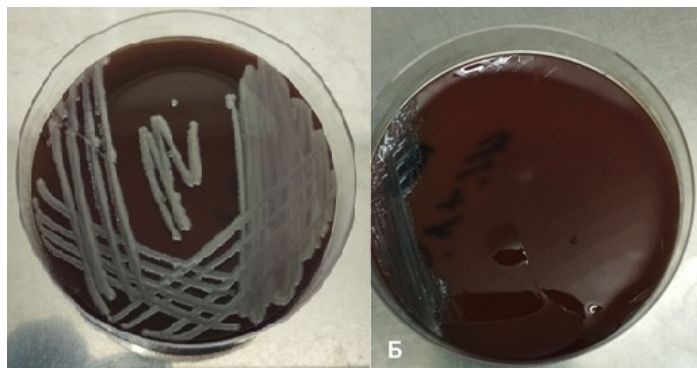


Рис. 4. А – отрицательный контроль. Перевернутый агар Шедлера через сутки после засева *K. pneumoniae*, аэробное культивирование. Рост *K. pneumoniae* во всех секторах. Б – положительный контроль. Перевернутый агар Шедлера с цефтазидимом через сутки после засева *K. pneumoniae*, аэробное культивирование. Рост *K. pneumoniae* в одном секторе ($\approx 10^5$ КОЕ).

Fig. 4. A – negative control. Inverted Schaedler agar 24 hours after inoculation with *K. pneumoniae*, aerobic cultivation. *K. pneumoniae* growth in all sectors. B – positive control. Inverted Schaedler agar with ceftazidime 24 hours after inoculation with *K. pneumoniae*, aerobic cultivation. *K. pneumoniae* growth in one sector ($\approx 10^5$ CFU).

всех случаях роста *K. pneumoniae* на обратной стороне АШ не было.

При этом наблюдался стабильный рост *K. pneumoniae* во всех секторах на перевернутом АШ без пробиотической культуры (отрицательный контроль) и значительно угнетенный ее рост на АШ с антибиотиком (положительный контроль) (рис. 4).

Для того чтобы исключить вероятность ложноположительных результатов из-за того, что пробиотическая культура, будучи первой засеяна на среду, просто обеднила ее,



Рис. 5. Агар Шедлера с пятидневным газоном *A. muciniphila* (на дне чашки после переворачивания агара) через 4 суток после засева *R. faecis* на обратную сторону агара, анаэробное культивирование. Наблюдается угнетенный рост *R. faecis* во всех секторах чашки Петри ($\approx 10^9$ КОЕ).

Fig. 5. Schaedler agar with a five-day lawn of *A. muciniphila* (on the bottom of the dish after turning the agar over) four days after inoculating *R. faecis* on the back of the agar, anaerobic cultivation. Inhibited growth of *R. faecis* is observed in all sectors of the Petri dish ($\approx 10^9$ CFU).

сделав невозможным рост других микроорганизмов, мы провели дополнительный эксперимент, где использовали в качестве тестового штамма не *K. pneumoniae*, а другой пробиотический штамм, *R. faecis*, который подсевали на перевернутый агар с пятидневной культурой *A. muciniphila*. В результате мы зафиксировали несколько угнетенный, но тем не менее хорошо заметный рост *R. faecis* на обратной стороне агара (рис. 5). Данный микроорганизм, как и *A. muciniphila*, является строгим анаэробом и достаточно требователен к составу питательной среды, на простых средах роста не дает. Несмотря на это, на среде после пятидневного культивирования *A. muciniphila* наблюдался рост *R. faecis*, следовательно, питательных веществ было достаточно даже для такого «капризного» микроорганизма. Таким образом, бактериостатическая активность, наблюдаемая в отношении как *K. pneumoniae*, так и *R. faecis*, не является результатом обеднения среды в нашем эксперименте с поэтапным культивированием. Кроме того, последующая серия экспериментов с использованием двухслойных питательных сред (см. раздел «Оценка антагонистической активности тестовых культур методом двухслойного агара»), где тестовый микроорганизм выращивали на МПА, наслоенном на АШ, подтверждает наше предположение.

Интересно отметить, что антагонистические свойства *A. muciniphila* проявлялись как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Следовательно, можно предположить, что основную роль в ограничении роста двух тестовых микроорганизмов все же играли некие продукты метаболизма, в большом количестве выделяемые пробиотической культурой в окружающую среду, а не сама культура. Очевидно, что после анаэробного культивирования *A. muciniphila* при перемещении ее в кислородные условия быстро утрачивает свою жизнеспособность, но питательная среда за счет диффузии метаболитов сохраняет возможность полностью или частично ограничивать рост других бактерий.

Безусловно, отдельного внимания заслуживает вопрос, в отношении каких именно культур проявляет свою антагонистическую активность *A. muciniphila*. В текущем исследовании мы протестировали лишь два вида микроорганизмов и наблюдали разную степень выраженности антагонистической активности: от частичного подавления роста *R. faecis* до полного угнетения *K. pneumoniae* при всех вариантах культивирования. Можно сделать спекулятивное предположение, что другие пробиотические штаммы, которые, согласно результатам метагеномных исследований микробиома желудочно-кишечного тракта, зачастую демонстрируют положительную корреляцию с *A. muciniphila*, менее чувствительны к ее продуктам и способны успешно сосуществовать с ней, в то время как многие патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, в т.ч. *K. pneumoniae*, в основном отрицательно коррелируют со различными видами пробиотических микроорганизмов [14, 15]. Однако для подтверждения такой гипотезы требуются дополнительные исследования с экспериментальной проверкой антагонистических свойств *A. muciniphila* в отношении культур как пробиотических, так и условно-патогенных и патогенных бактерий. Также крайне актуально более подробное изучение механизмов, лежащих в основе наблюдаемого антагонизма, с подробным анализом метаболитов *A. muciniphila*.

Оценка антагонистической активности тестовых культур методом двухслойного агара

В данной серии экспериментов при полностью анаэробном культивировании обоих микроорганизмов (как *A. muciniphila* в толще среды, так и *K. pneumoniae* на МПА; вариант 1) мы получили результаты, аналогичные таковым при использовании метода перевернутого агара. Как трехдневная, так и пятидневная глубинная культура *A. muciniphila* полностью подавляла рост *K. pneumoniae* на поверхности МПА при инкубировании чашек в анаэробных условиях. Помимо прочего, это указывает именно на специфическое ингибирование роста, но не на обеднение питательной среды, поскольку в данном случае тестовый микроорганизм выращивался на второй среде.

Результаты контрольных экспериментов (отрицательный и положительный контроль) также соответствовали ожидаемым: хороший рост *K. pneumoniae* в случае отсутствия пробиотической культуры в АШ и сильно угнетенный рост при добавлении антибиотика в АШ (рис. 6).

Однако замена хотя бы на одном этапе анаэробного культивирования аэробным (варианты 2 и 3) полностью меняла результаты эксперимента. Как при аэробном культивировании только после подсева *K. pneumoniae* (вариант 2), так и при аэробном культивировании с самого начала (вариант 3) наблюдалось значительное снижение ингибирования роста тестируемой культуры. При использовании вариантов 2 и 3 наблюдали лишь частичное угнетение роста тестовой культуры, которое при секторном посеве либо проявлялось в виде роста не во всех секторах, либо характеризовалось более редким расположением колоний на питательной среде (рис. 7). При этом возраст пробиотической культуры, выращенной в толще АШ, не оказывал влияния на результаты.

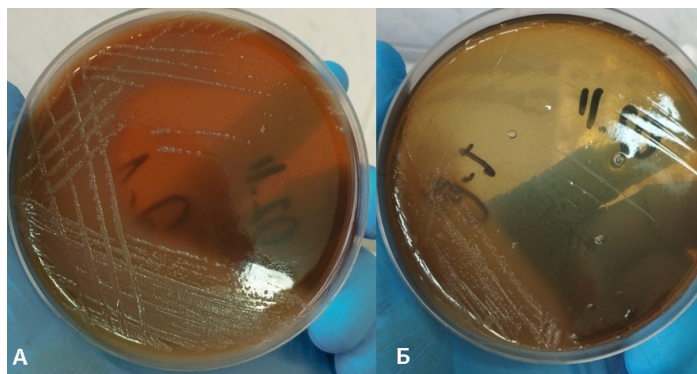


Рис. 6. А – отрицательный контроль. Двухслойный агар: нижний слой – агар Шедлера без пробиотической культуры; верхний слой – мясопептонный агар через сутки после засева *K. pneumoniae* по Gold, анаэробное культивирование. Хороший рост *K. pneumoniae*. Б – положительный контроль. Двухслойный агар: нижний слой – агар Шедлера с антибиотиком; верхний слой – мясопептонный агар через сутки после засева *K. pneumoniae* по Gold, анаэробное культивирование. Наблюдается значительное угнетение роста *K. pneumoniae* ($\approx 10^4$ КОЕ).

Fig. 6. A – negative control. Two-layer agar: the lower layer is Schaedler agar without probiotic culture; the upper layer is meat-peptone agar 24 hours after inoculation with *K. pneumoniae* according to Gold, anaerobic cultivation. Good growth of *K. pneumoniae*. B – positive control. Two-layer agar: the lower layer is Schaedler agar with antibiotic; the upper layer is meat-peptone agar 24 hours after inoculation with *K. pneumoniae* according to Gold, anaerobic cultivation. Significant inhibition of *K. pneumoniae* growth is observed ($\approx 10^4$ CFU).

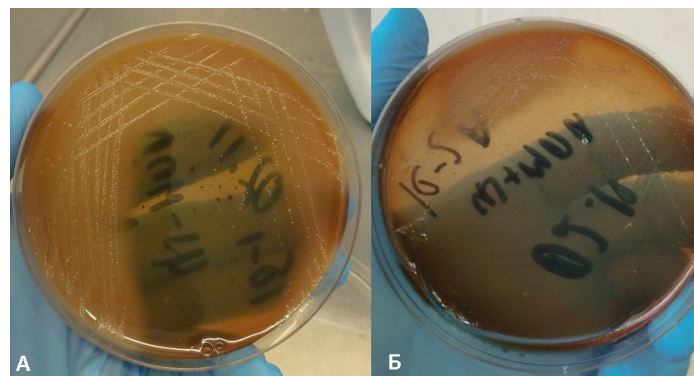


Рис. 7. А – двухслойный агар: нижний слой – агар Шедлера с трехдневной культурой *A. muciniphila* (в толще среды, анаэробное культивирование); верхний слой – мясопептонный агар через сутки после засева *K. pneumoniae* по методу Gold, аэробное культивирование (вариант 2). Рост *K. pneumoniae* хороший, но не сливной, наблюдается несколько «разреженное» расположение колоний. Б – двухслойный агар: нижний слой – агар Шедлера с пятидневной *A. muciniphila* (в толще среды, аэробное культивирование); верхний слой – мясопептонный агар через сутки после засева *K. pneumoniae* по методу Gold, аэробное культивирование (вариант 3). Рост *K. pneumoniae* умеренный, не во всех секторах ($\approx 10^5$ КОЕ).

Fig. 7. A – two-layer agar: the lower layer is Schaedler agar with a three-day culture of *A. muciniphila* (in the thickness of the medium, anaerobic cultivation); the upper layer is meat-peptone agar 24 hours after inoculation with *K. pneumoniae* using the Gold method, aerobic cultivation (option 2). The growth of *K. pneumoniae* is good, but not confluent; a somewhat “sparse” arrangement of colonies is observed. B – two-layer agar: the lower layer is Schaedler agar with five-day *A. muciniphila* (in the thickness of the medium, aerobic cultivation); the upper layer is meat-peptone agar 24 hours after inoculation with *K. pneumoniae* using the Gold method, aerobic cultivation (option 3). The growth of *K. pneumoniae* is moderate, not in all sectors ($\approx 10^5$ CFU).

Такое влияние смены способа культивирования (полная или частичная замена анаэробных условий на аэробные) представляется весьма интересным. Во-первых, несмотря на то, что *A. muciniphila* культивируется преимущественно поверхностным способом, вполне возможно рассматривать ее выращивание в толще среды. В полностью анаэробных условиях такой способ, по всей вероятности, не сильно отличается от поверхностного и обеспечивает те же самые результаты. В то же время очевидно, что аэробное культивирование даже в толще среды не обеспечивает достаточной защиты от кислорода строгим анаэробам, снижает потенциал их роста, а следовательно, и антагонистическую активность. Однако это вполне может быть и не основным фактором, лимитирующим бактериостатическую активность, на что указывают результаты второго варианта культивирования в рамках этого метода (анаэробное для *A. muciniphila* с последующим аэробным для *K. pneumoniae*). В данном случае в первую очередь следует отметить особенности роста тестового штамма в присутствии/отсутствии кислорода. Являясь факультативным анаэробом, *K. pneumoniae* все же предпочитает аэробные условия, демонстрируя наилучшие показатели роста именно в кислородной среде. Возможно, несколько сниженный за счет глубинного культивирования антагонистический потенциал *A. muciniphila* оказывается достаточным для подавления роста *K. pneumoniae* в менее комфортных для нее анаэробных условиях, но при смене условий на аэробные его становится недостаточно для пода-

вления роста тестовой культуры. Кроме того, можно предположить, что наличие или отсутствие кислорода может каким-то образом влиять на диффузию продуктов метаболизма микроорганизмов на стыке двух питательных сред.

Несмотря на сложность интерпретации результатов данной методики, находки ее определенно представляют большой интерес. С имеющимися на сегодняшний день результатами проблематично ответить на вопрос, почему смена условий культивирования на аэробные так резко повлияла на результаты. Дальнейшие исследования с использованием методики двухслойного агара с разными комбинациями сред, микроорганизмов и условий культивирования смогут помочь лучше понять происходящие процессы.

На наш взгляд, описываемый усложненный способ оценки антагонизма с двумя средами более актуален для определения антагонистической активности между теми микроорганизмами, которые не могут расти на одной среде. В подобном случае у исследователя нет возможности применить метод перевернутого агара либо совместного культивирования на одной среде, которые более просты и, вероятно, надежны, дают более стабильные результаты, учитывая отсутствие возможных дополнительных трудностей, связанных с глубинным культивированием, диффузией метаболитов на стыке сред и т.д. При изучении антагонистической активности пробиотических культур, особенно пробиотиков нового поколения, высокая требовательность этих микроорганизмов к составу питательной среды определяет необходимость применения сложных, многокомпонентных сред. Но эта же их особенность обеспечивает значительный плюс – возможность культивирования тестовых штаммов на той же самой среде, без необходимости совмещения разных типов сред. Использование одной среды упрощает эксперимент, повышая надежность, сокращает время, позволяет осуществлять как одновременное, так и поэтапное культивирование (в зависимости от особенностей скорости роста микроорганизмов-антагонистов), а также обеспечивает наращивание значительного количества бактериальной биомассы (что может быть критично в случае умеренного бактериостатического потенциала).

Заключение

В нашем исследовании мы апробировали несколько методик детекции антагонистической активности двух микроорганизмов на примере пары *A. muciniphila* – *K. pneumoniae* для выбора той, которая бы оптимально подошла для работы с пробиотическими культурами, учитывая такие их особенности, как требовательность к составу питательных сред, чувствительность к кислороду, вероятно, умеренную выраженность антагонистических свойств по сравнению с другими, более «агрессивными» микроорганизмами – продуцентами различных антимикробных веществ. Мы с уверенностью можем сказать, что методики, обеспечивающие лишь ограниченный контакт между двумя тестируемыми штаммами (метод перпендикулярных штрихов, методов агаровых блоков), вряд ли подойдут для выявления умеренного антагонизма. Несмотря на относительную простоту, быстроту и удобство этих двух методик, что является их неоспоримым преимуществом, их чувствительность может быть недостаточ-

ной для определенных микроорганизмов. Действительно, для того чтобы зафиксировать антагонистическую активность этими методами, тестируемый штамм, вероятно, должен обладать крайне высоким потенциалом ограничения роста других культур. В противном случае можно получить ложноотрицательный результат, как было в нашем исследовании. Безусловно, делать однозначные выводы о применимости метода перпендикулярных штрихов и метода агаровых блоков на основании экспериментов лишь с одним пробиотическим штаммом было бы поспешным, но, предварительные выводы, на наш взгляд, вполне допустимы.

Анализ результатов привел нас к заключению, что оптимальными методиками для оценки антагонистического потенциала исследованного штамма *A. muciniphila* (и, возможно, других пробиотических микроорганизмов) являются одновременное культивирование на одной питательной среде и метод перевернутого агара. Эти техники позволили, во-первых, зафиксировать наличие антагонистической активности для нашей пары бактерий, а во-вторых, продемонстрировали хорошую повторяемость результатов. В целом эти методики удобны, быстры в исполнении, позволяют проводить количественную оценку, не требуют сложных манипуляций и большого расхода сред (как, например, в методе серийных разведений). Метод перевернутого агара может быть чуть более сложным и требующим большой аккуратности исполнения, однако его чувствительность, по всей видимости, гораздо выше, чем у всех остальных. Это позволяет применять его для изучения тех микроорганизмов, которые не способны демонстрировать ярко выраженные антагонистические свойства. Следует также помнить, что как метод совместного культивирования, так и метод перевернутого агара подходят лишь для тех пар микроорганизмов, которые могут выращиваться на одной питательной среде, что объективно является минусом данной техники оценки антагонизма.

В случае необходимости работы с микроорганизмами, которые требуют разных по составу питательных сред, и при этом изучаемый штамм предположительно не обладает сильным антагонизмом в отношении тестовой культуры, пожалуй, одним из немногих доступных методов остается метод двухслойного агара. С технической точки зрения эта методика является наиболее сложной и трудозатратной из всех вышеописанных. Кроме того, многие нюансы ее выполнения (необходимость глубинного культивирования, наслаивания питательных сред определенной толщины, при строгом соблюдении температуры и т.д.) будут требовать большого опыта от бактериолога, а любые неточности могут в конечном итоге влиять на результаты экспериментов. Тем не менее ее использование, на наш взгляд, оправдано именно для микроорганизмов с относительно невысоким антагонистическим потенциалом в том случае, когда тестовая культура требует другой питательной среды. Метод агаровых блоков в данном случае, хотя и будет формально подходить, может не позволить выявить существующий слабый антагонизм между штаммами.

Безусловно, результаты проведенного эксперимента не позволяют нам сделать однозначный вывод о механизмах, лежащих в основе наблюдаемого нами антагонизма между *A. muciniphila* и *K. pneumoniae*. Есть некоторые основания

полагать, что *A. muciniphila* действует не путем активной конкуренции за питательный субстрат и подавления *K. pneumoniae*, а выделяет в окружающую среду некие метаболиты, которые в значительной мере препятствуют росту тестового штамма. На данном этапе исследований не представляется возможным установить химическую природу данных метаболитов, а также дать оценку их терапевтического потенциала. Кроме того, следует отметить, что фиксируемые *in vitro* взаимоотношения двух культур могут отличаться от таковых *in vivo*, где данные микроорганизмы являются частью чрезвычайно сложно организованных и изменчивых бактериальных сообществ, что может в корне менять механизм и характер их взаимодействия. Тем не менее исследования антагонистической активности не теряют своей актуальности, поскольку предоставляют вполне реальную и относительно легко реализуемую возможность изучить особенности конкретных штаммов, что в последующем поможет хотя бы частично пролить свет на такие важные и перспективные для исследователя аспекты, как механизмы пробиотической активности, а также лучше понять терапевтический потенциал изучаемых микроорганизмов.

При выборе метода для оценки антагонистической активности следует ориентироваться прежде всего на особенности пар микроорганизмов, в т.ч. возможность их совместного культивирования на одной питательной среде, а также предположений о возможной силе антагонизма. Если есть вероятность того, что тестируемый штамм обладает лишь умеренной способностью подавлять рост других микроорганизмов, то лучше сделать выбор в пользу методов перевернутого агара или двухслойного агара, поскольку они могут обеспечить более высокую чувствительность.

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 одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты настоящей работы, гарантируют надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

Author contributions

All authors have read and approved the final manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Литература

1. Ogunrinola GA, Oyewale JO, Oshamika OO, Olasehinde GI. The Human Microbiome and Its Impacts on Health. *Int J Microbiol.* 2020 Jun 12;2020:8045646. DOI: 10.1155/2020/8045646

2. Aggarwal N, Kitano S, Pua GRY, Kittelmann S, Hwang IY, Chang MW. Microbiome and Human Health: Current Understanding, Engineering, and Enabling Technologies. *Chem Rev.* 2023 Jan 11;123(1):31-72. DOI: 10.1021/acs.chemrev.2c00431
3. Shahab M, Shahab N. Coevolution of the Human Host and Gut Microbiome: Metagenomics of Microbiota. *Cureus.* 2022 Jun 24;14(6):e26310. DOI: 10.7759/cureus.26310
4. Oliphant K, Allen-Vercoe E. Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: major fermentation by-products and their impact on host health. *Microbiome.* 2019 Jun 13;7(1):91. DOI: 10.1186/s40168-019-0704-8
5. Hou K, Wu ZX, Chen XY, Wang JQ, Zhang D, Xiao C, et al. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther.* 2022 Apr 23;7(1):135. DOI: 10.1038/s41392-022-00974-4
6. Man WH, de Steenhuijsen Piters WA, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol.* 2017 May;15(5):259-270. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.14
7. Khaledi M, Poureslamfar B, Alsaab HO, Tafaghodi Sh, Hjaz A, Singh R, et al. The role of gut microbiota in human metabolism and inflammatory diseases: a focus on elderly individuals. *Ann Microbiol* 2024;74(1). DOI: 10.1186/s13213-023-01744-5
8. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.* 2014 Mar 27;157(1):121-41. DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.011
9. Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, Núñez G. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunol Rev.* 2017 Sep;279(1):70-89. DOI: 10.1111/imr.12567
10. Vijay A, Valdes AM. Role of the gut microbiome in chronic diseases: a narrative review. *Eur J Clin Nutr.* 2022 Apr;76(4):489-501. DOI: 10.1038/s41430-021-00991-6
11. Fijan S. Probiotics and Their Antimicrobial Effect. *Microorganisms.* 2023 Feb 19;11(2):528. DOI: 10.3390/microorganisms11020528
12. Патент №2412989 С1 Российская Федерация, МПК С12Н 1/00, А61К 35/74. Способ индивидуального выявления антагонистической активности пробиотических препаратов, содержащих лактобактерии и/или бифидобактерии, в отношении условно-патогенных микроорганизмов, выделенных при диагностике дисбактериоза кишечника: №2009145605/10: заявл. 08.12.2009: опубл. 27.02.2011. Оришак ЕА, Бойцов АГ, Нилова ЛЮ; заявитель Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И.Мечникова Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию".
13. Lo Giudice A, Brill M, Bruni V, De Domenico M, Fani R, Michaud L. Bacterium-bacterium inhibitory interactions among psychrotrophic bacteria isolated from Antarctic seawater (Terra Nova Bay, Ross Sea). *FEMS Microbiol Ecol.* 2007 Jun;60(3):383-96. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2007.00300.x
14. Li X, Li Z, He Y, Li P, Zhou H, Zeng N. Regional distribution of *Christensenellaceae* and its associations with metabolic syndrome based on a population-level analysis. *PeerJ.* 2020 Aug 4;8:e9591. DOI: 10.7717/peerj.9591
15. Xu C, Jiang H, Feng LJ, Jiang MZ, Wang YL, Liu SJ. *Christensenella minuta* interacts with multiple gut bacteria. *Front Microbiol.* 2024 Feb 19;15:1301073. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1301073

References

1. Ogunrinola GA, Oyewale JO, Oshamika OO, Olasehinde GI. The Human Microbiome and Its Impacts on Health. *Int J Microbiol.* 2020 Jun 12;2020:8045646. DOI: 10.1155/2020/8045646
2. Aggarwal N, Kitano S, Pua GRY, Kittelmann S, Hwang IY, Chang MW. Microbiome and Human Health: Current Understanding, Engineering, and Enabling Technologies. *Chem Rev.* 2023 Jan 11;123(1):31-72. DOI: 10.1021/acs.chemrev.2c00431

- Shahab M, Shahab N. Coevolution of the Human Host and Gut Microbiome: Metagenomics of Microbiota. *Cureus*. 2022 Jun 24;14(6):e26310. DOI: 10.7759/cureus.26310
- Oliphant K, Allen-Vercoe E. Macronutrient metabolism by the human gut microbiome: major fermentation by-products and their impact on host health. *Microbiome*. 2019 Jun 13;7(1):91. DOI: 10.1186/s40168-019-0704-8
- Hou K, Wu ZX, Chen XY, Wang JQ, Zhang D, Xiao C, et al. Microbiota in health and diseases. *Signal Transduct Target Ther*. 2022 Apr 23;7(1):135. DOI: 10.1038/s41392-022-00974-4
- Man WH, de Steenhuijsen Piters WA, Bogaert D. The microbiota of the respiratory tract: gatekeeper to respiratory health. *Nat Rev Microbiol*. 2017 May;15(5):259-270. DOI: 10.1038/nrmicro.2017.14
- Khaledi M, Poureslamfar B, Alsaab HO, Tafaghodi Sh, HJazi A, Singh R, et al. The role of gut microbiota in human metabolism and inflammatory diseases: a focus on elderly individuals. *Ann Microbiol* 2024;74(1). DOI: 10.1186/s13213-023-01744-5
- Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*. 2014 Mar 27;157(1):121-41. DOI: 10.1016/j.cell.2014.03.011
- Pickard JM, Zeng MY, Caruso R, Núñez G. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses, and inflammatory disease. *Immunol Rev*. 2017 Sep;279(1):70-89. DOI: 10.1111/imr.12567
- Vijay A, Valdes AM. Role of the gut microbiome in chronic diseases: a narrative review. *Eur J Clin Nutr*. 2022 Apr;76(4):489-501. DOI: 10.1038/s41430-021-00991-6
- Fijan S. Probiotics and Their Antimicrobial Effect. *Microorganisms*. 2023 Feb 19;11(2):528. DOI: 10.3390/microorganisms11020528
- Patent No. 2412989 C1 Russian Federation, IPC C12N 1/00, A61K 35/74. Method for individual detection of antagonistic activity of probiotic preparations containing lactobacilli and/or bifidobacteria against opportunistic microorganisms isolated during diagnosis of intestinal dysbacteriosis: No. 2009145605/10: declared 08.12.2009: published 27.02.2011. Orishak EA, Boytsov AG, Nilova LYu; applicant State Educational Institution of Higher Professional Education "I.I.Mechnikov St. Petersburg State Medical Academy of the Federal Agency for Healthcare and Social Development". (In Russian).
- Lo Giudice A, Brilli M, Bruni V, De Domenico M, Fani R, Michaud L. Bacterium-bacterium inhibitory interactions among psychrotrophic bacteria isolated from Antarctic seawater (Terra Nova Bay, Ross Sea). *FEMS Microbiol Ecol*. 2007 Jun;60(3):383-96. DOI: 10.1111/j.1574-6941.2007.00300.x
- Li X, Li Z, He Y, Li P, Zhou H, Zeng N. Regional distribution of *Christensenellaceae* and its associations with metabolic syndrome based on a population-level analysis. *PeerJ*. 2020 Aug 4;8:e9591. DOI: 10.7717/peerj.9591
- Xu C, Jiang H, Feng LJ, Jiang MZ, Wang YL, Liu SJ. *Christensenella minuta* interacts with multiple gut bacteria. *Front Microbiol*. 2024 Feb 19;15:1301073. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1301073

Информация о соавторах:

Волков Михаил Александрович, аналитик отдела медицинской геномики ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России
ORCID: 0009-0005-8124-7869

Панькова Марина Николаевна, биолог лаборатории микробиологии и паразитологии ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России

Федец Злата Евгеньевна, биолог лаборатории микробиологии и паразитологии ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России

Загайнова Анжелика Владимировна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией микробиологии и паразитологии ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России
ORCID: 0000-0003-4772-9686

Побережный Даниил Юрьевич, аналитик отдела медицинской геномики ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России
ORCID: 0000-0001-7281-4714

Даниэль Вероника Вячеславовна, кандидат медицинских наук, аналитик отдела медицинской геномики ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России
ORCID: 0000-0003-0547-3280

Макаров Валентин Владимирович, кандидат биологических наук, заведующий отделом анализа и прогнозирования медико-биологических рисков здоровью ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России
ORCID: 0000-0001-9495-0266

Муравьева Вера Васильевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России
ORCID: 0000-0003-0383-0731

Гордеев Алексей Борисович, кандидат биологических наук, заведующий отделом молекулярной микробиологии и биоинформатики ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России
ORCID: 0000-0002-9171-5276

Припутневич Татьяна Валерьевна, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, главный внештатный специалист по медицинской микробиологии Минздрава России, директор Института микробиологии, антимикробной терапии и эпидемиологии ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России
ORCID: 0000-0002-4126-9730

Юдин Владимир Сергеевич, кандидат медицинских наук, директор Института синтетической биологии и медицины ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России
ORCID: 0000-0002-9199-625

Кескинов Антон Артурович, кандидат медицинских наук, кандидат экономических наук, начальник Управления организации проведения научных исследований ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России
ORCID: 0000-0001-7378-983X

Каштанова Дарья Андреевна, кандидат медицинских наук, заместитель начальника Отдела медицинской геномики ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России
ORCID: 0000-0001-8977-4384

Юдин Сергей Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, генеральный директор ФГБУ «Центр стратегического планирования и управления медико-биологическими рисками здоровью» ФМБА России
ORCID: 0000-0002-7942-8004

Information about co-authors:

Mikhail A. Volkov, analyst in the Department of Medical Genomics, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency
ORCID: 0009-0005-8124-7869

Marina N. Pankova, biologist at the Laboratory of Microbiology and Parasitology, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency

Zlata E. Fedets, biologist at the Laboratory of Microbiology and Parasitology, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency

Anzhelika V. Zagaynova, PhD in Biological Sciences, head of the Laboratory of Microbiology and Parasitology, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency
ORCID: 0000-0003-4772-9686

Daniil Yu. Poberezhnyi, analyst in the Department of Medical Genomics, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency
ORCID: 0000-0001-7281-4714

Veronika V. Daniel, PhD, MD, analyst in the Department of Medical Genomics, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency
ORCID: 0000-0003-0547-3280

Valentin V. Makarov, PhD in Biological Sciences, Head of the Department for Analysis and Prognosing of Medical and Biological Health Risks, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency
ORCID: 0000-0001-9495-0266

Vera V. Muravieva, PhD in Biological Sciences, senior research fellow in the Laboratory of Molecular Microbiology, Kulakov National Medical Research Centre for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation
ORCID: 0000-0003-0383-0731

Alexey B. Gordeev, PhD in Biological Sciences, Head of the Department of Molecular Microbiology and Bioinformatics, Kulakov National Medical Research Centre for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation
ORCID: 0000-0002-9171-5276

Tatiana V. Pripitnevich, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, MD, PhD, DSc, chief consultant for medical microbiology at the Ministry of Health of the Russian Federation, Director of the Institute of Microbiology, Antimicrobial Therapy, and Epidemiology, Kulakov National Medical Research Centre for Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Ministry of Health of the Russian Federation
ORCID: 0000-0002-4126-9730

Vladimir S. Yudin, PhD, MD, Director of the Institute of Synthetic Biology and Medicine, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency
ORCID: 0000-0002-9199-6258

Anton A. Keskinov, PhD, MD, PhD in Economic Sciences, Head of the Department for the Organization of Research, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency
ORCID: 0000-0001-7378-983X

Daria A. Kashtanova, PhD, MD, Deputy Head of the Department of Medical Genomics, Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency
ORCID: 0000-0001-8977-4384

Sergey M. Yudin, MD, PhD, DSc, Professor, Director of Centre for Strategic Planning and Management of Biomedical Health Risks, Federal Biomedical Agency
ORCID: 0000-0002-7942-8004

НОВОСТИ НАУКИ

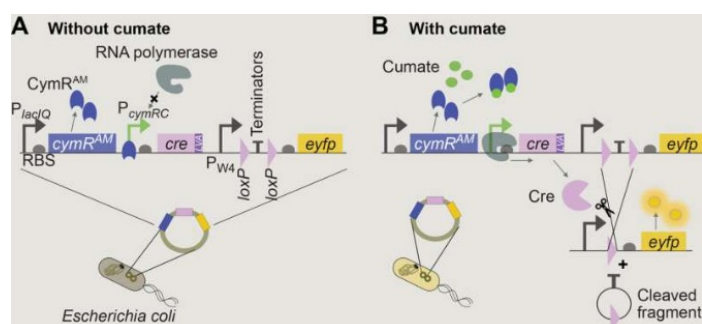
Инженерные *E. coli* могут отслеживать мышьяк, предлагая дешевый биосенсор

Способность индуцировать наследственные геномные изменения в ответ на экологические сигналы ценна для экологического биосенсирования, экспериментального изучения микробной экологии и эволюции, а также для приложений в области синтетической биологии.

Ситеспецифические рекомбиназы обеспечивают путь к генетической памяти путем целевых модификаций ДНК, но их высокая специфичность и эффективность компенсируются утечкой экспрессии и ограниченной настраиваемостью у прокариот. Мы разработали строго регулируемую, титруемую систему Cre-рекомбиназы для *Escherichia coli*, которая достигает низких скоростей рекомбинации и минимальной базовой активности. Реализованная как на плазидах, так и на хромосоме, последняя показала превосходное сохранение генетической памяти через поколения. Эти функции делают систему широко применимой для экологического биосенсирования и других приложений.

Чтобы продемонстрировать применимость к экологическому биосенсированию, мы разработали цельноклеточный биосенсор на основе рекомбинации для арсенита, токсичного и повсеместного загрязнителя, который в основном мобилизуется в бескислородных средах, таких как затопляемые почвы, осадки и водоносные горизонты. Однако существующие цельноклеточные биосенсоры арсенита сталкиваются с ограничениями по чувствительности и технологии в анаэробных условиях. Наш биосенсор надежно записывал бескислородное воздействие арсенита как стабильную генетическую память для задержанного флуоресцентного отсчета в аэробных условиях, с чувствительностью обнаружения, сопоставимой с традиционными методами мокрого химического анализа. Разделяя воздействие и измерение, этот подход создает основу для биосенсирования арсенита в полевых условиях, включая вариабельность окислительно-восстановительного потенциала и другие физико-химические градиенты, без ограничений анаэробных измерений.

В более широком смысле, способность индуцировать низкоскоростные, наследуемые генетические изменения расширяет генетический инструментарий для экологически реагирующих систем с приложениями в области экологического мониторинга, биопроизводства и биотехнологии, а также экспериментальных исследований микробной экологии, эволюции и взаимодействия хозяин-микроорганизм.



Garabello E, Yoon H, Reid MC, Giometto A.

Tunable low-rate genomic recombination with Cre-lox in *Escherichia coli*: a versatile tool for anoxic environmental biosensing and synthetic biology. *Appl Environ Microbiol.* 2026; e01768-25. DOI: 10.1128/aem.01768-25

К вопросу об изучении противогрибковой активности наноструктурированного церия

В.Н.Царёв^{1,2}, Э.А.Базикян^{3,4}, М.С.Подпорин¹, А.М.Саркисян³, Е.Р.Садчикова⁵, В.К.Иванов⁶

¹Научно-образовательный институт фундаментальной медицины им. В.И.Покровского, Москва, Российская Федерация;

²Научно-исследовательский медико-стоматологического институт Москва, Российская Федерация;

³Научно-образовательный институт непрерывного профессионального образования им. Н.Д.Ющука, Москва, Российская Федерация;

⁴Научно-исследовательский институт «Технобиомед», Москва, Российская Федерация;

⁵ФГБУН «Институт биологии гена» РАН, Москва, Российская Федерация;

⁶ФГБУН «Институт общей и неорганической химии РАН им. Н.С.Курнакова» РАН, Москва, Российская Федерация

У представителей микромицетов выявлены разнообразные механизмы формирования устойчивости к традиционным антимикотикам. Это приводит к снижению эффективности стандартных схем лечения и создает серьезную угрозу в медицинской практике. Наибольшее практическое применение для преодоления механизмов резистентности нашли наночастицы металлов и их оксидов (например, серебра, золота, цинка, меди и титана).

Цель исследования: оценка антифунгальной активности наночастиц оксида церия (CeO₂) в отношении клинически значимых дрожжевых грибов рода *Candida*, включая влияние на кинетику роста и жизнеспособность клеток, с использованием метода автоматизированного мониторинга в реальном времени.

Материалы и методы. Оценку антибактериальной активности штамма проводили методом автоматизированного мониторинга кинетики роста референтного штамма *Candida albicans* ATCC 10237 с использованием системы программируемого культивирования RTS-8 в реальном времени.

Результаты. Уникальность выявленного противогрибкового действия заключается в комплексном характере подавления роста тестового штамма *C. albicans*. Для всех образцов показано статистически значимое различие при достижении значений, сопоставимых с М-концентрацией, изменение которой свидетельствует о существенном снижении генеративной активности исследуемых грибковых популяций. Это подтверждается значительным увеличением продолжительности лаг-фазы и снижением максимальной скорости роста и размножения. При сравнении образцов отмечались четкие различия в наступлении отдельных периодов и фаз роста и размножения популяций, а также статистически значимая разница в значениях оптической плотности при анализе ключевых точек эксперимента в зависимости от концентрации.

Заключение. Методом автоматизированного мониторинга кинетики роста доказано дозозависимое ингибирующее действие наночастиц церия на тестовый штамм *C. albicans*. Установлен порог фунгистатической активности нано-CeO₂, проявляющийся уже при концентрации 10 мкг/мл, что характеризуется достоверным увеличением продолжительности лаг-фазы и снижением максимальной скорости роста культуры.

Ключевые слова: антимикотики, резистентность, программируемое культивирование, кинетика роста, *Candida albicans*

Для цитирования: Царёв В.Н., Базикян Э.А., Подпорин М.С., Саркисян А.М., Садчикова Е.Р., Иванов В.К. К вопросу об изучении противогрибковой активности наноструктурированного церия. Бактериология. 2026; 11(1): 72–78. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-72-78

On the study of fungi-active nanostructured metals

V.N.Tsarev^{1,2}, E.A.Bazikyan^{3,4}, M.S.Podporin¹, A.M.Sarkisyan³, E.R.Sadchikova⁵, V.K.Ivanov⁶

¹V.I.Pokrovsky Scientific and Educational Institute of Fundamental Medicine, Moscow, Russian Federation;

²Research Institute of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation;

³N.D.Yushchuk Scientific and Educational Institute of Continuous Professional Education, Moscow, Russian Federation;

⁴Research Institute of TechnoBioMed, Moscow, Russian Federation;

⁵Institute of Gene Biology of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation;

⁶Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Для корреспонденции:

Царёв Виктор Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии, иммунологии Научно-образовательного института фундаментальной медицины им. В.И.Покровского, директор Научно-исследовательского медико-стоматологического института

Адрес: 123425, Москва, ул. Дедегатская, 20/1
ORCID: 0000-0002-3311-036

Статья поступила 07.11.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Viktor N. Tsarev, MD, PhD, DSc, professor, Head of the Department of Microbiology, Virology, and Immunology at the V.I.Pokrovsky Scientific and Educational Institute of Fundamental Medicine, Director of Research Institute of Medicine and Dentistry

Address: 20/1 Delegatskaya str., Moscow, 123425, Russian Federation
ORCID: 0000-0002-3311-036

The article was received 07.11.2025, accepted for publication 30.03.2026

Representatives of micromycetes have revealed various mechanisms of formation of resistance to traditional antimycotics. This leads to a decrease in the effectiveness of standard treatment schemes and creates a serious threat in medical practice. The most practical application for overcoming resistance mechanisms found nanoparticles of metals and their oxides (e.g. silver, gold, zinc, copper and titanium), which is reflected in the relevant studies

Purpose of the study: evaluation of antifungal activity of cerium oxide nanoparticles (CeO₂) against clinically significant yeast fungi of the genus *Candida*, including analysis of the effect on the growth kinetics and cell viability, using the method of automated monitoring in real time.

Materials and methods. The antibacterial activity of the strain was evaluated using the automated monitoring of the growth kinetics of the reference strain *Candida albicans* ATCC 10237 using the RTS-8 programmed cultivation system in real time.

Results. The uniqueness of the identified antifungal effect lies in the complex nature of the suppression of the growth of the test strain of *C. albicans*. For all samples, a statistically significant difference was shown when values comparable to the M-concentration were reached, which indicates a significant decrease in the generative activity of the studied fungal populations. This is confirmed by a significant increase in the lag phase duration and a decrease in the maximum growth and reproduction rate. When comparing the samples, clear differences were observed in the onset of individual periods and phases of population growth and reproduction, as well as a statistically significant difference in OD values when analyzing key points of the experiment, depending on the concentration.

Conclusions. The method of automated monitoring of growth kinetics has proven the dose-dependent inhibitory effect of cerium nanoparticles on the test strain of *C. albicans*. The threshold of fungistatic activity of nano-CeO₂, manifested already at a concentration of 10 µg/ml, was established, which is characterized by a significant increase in the lag phase duration and a decrease in the maximum growth rate of the culture.

Key words: antimycotics, resistance, programmed cultivation, growth kinetics, *Candida albicans*

For citation: Tsarev V.N., Bazikyan E.A., Podporin M.S., Sarkisyan A.M., Sadchikova E.R., Ivanov V.K. On the study of fungi-active nanostructured metals. *Bacteriology*. 2026; 11(1): 72–78. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-72-78

Системные микозы, в первую очередь кандидоз и аспергиллез, представляют собой серьезную проблему для здравоохранения, поскольку они часто диагностируются на поздних стадиях и трудно поддаются терапии [1, 2]. Учитывая, что представители данных таксономических групп в норме присутствуют в организме здорового человека в качестве условно-патогенных агентов, очевидно, что при возникновении иммунологической недостаточности (например, после сезонных вирусных инфекций или на фоне некоторых соматических патологий, прежде всего гематологических и онкологических) персистирующие микромицеты начинают активно размножаться. Они колонизируют слизистые оболочки и полостные органы, демонстрируя тенденцию к инвазии в кровеносное русло и развитию сепсиса [3–5].

Известно, что грибы выступают как спутники и маркеры развития иммунодефицитного состояния у человека, в т.ч. при супрессии мукозального иммунитета [6, 7]. Актуальность этой проблемы значительно возросла после пандемии коронавирусной инфекции, которая оставила выраженный «иммунодефицитный след» в популяции [3, 8]. Так, по данным Ипполитова и соавт., частота выделения дрожжевых грибов рода *Candida* в диагностически значимом титре у пациентов с хроническим пародонтитом, перенесших COVID-19, достигает 80%. При этом обнаруживаются не только приоритетный патоген *C. albicans*, но и сравнительно редкие виды, такие как *C. krusei* и *C. glabrata* [9].

Анализируя перспективы терапии системных микозов, следует констатировать, что арсенал эффективных противогрибковых препаратов остается значительно ограниченным. Основу лечения на сегодняшний день составляют представители трех основных классов химиопрепаратов: производные азола (итраконазол, флуконазол, вориконазол), эхинокандиды и алиламины. Однако их применение при системных инфекциях сопряжено с существенными трудностями: терапия требует длительных курсов, сами препараты обладают выраженной токсичностью (в первую очередь гепато- и нефротоксичностью) и зачастую плохой переносимостью, что ограничивает их применение у ослабленных пациентов [10–12].

Аналогичные проблемы, включая токсичность и ограниченность выбора, характерны и для другого класса – противогрибковых антибиотиков полиенового ряда (нистатин, амфотерицин В, натамицин). Хотя амфотерицин В долгое время считался золотым стандартом лечения инвазивных микозов, его использование лимитировано высоким риском тяжелых побочных реакций [11].

Усугубляет ситуацию глобальный рост антифунгальной резистентности. Подобно бактериям, патогенные грибы демонстрируют разнообразные и сложные механизмы формирования устойчивости к фунгицидным и фунгистатическим препаратам, включая формирование биопленок. Это приводит к снижению эффективности стандартных схем лечения и создает серьезную угрозу в медицинской практике [12–14].

Наиболее ярким и опасным примером этой тенденции является глобальное распространение нового вида микромицетов – *Candida auris*. Данный патоген обладает уникальной способностью к длительной персистенции в условиях больничной среды, вызывает вспышки инфекций с высокой летальностью, характеризуется склонностью к инвазивному течению с развитием фунгемии и, что наиболее тревожно, часто обладает множественной лекарственной устойчивостью одновременно к нескольким классам антимикотиков (азолам, полиенам и эхинокандинам). Все это делает *C. auris* одним из наиболее опасных внутрибольничных патогенов современности, отнесенным Всемирной организацией здравоохранения к группе критического приоритета [1, 13].

В поисках решения данной проблемы в последние десятилетия сформировалась перспективная технологическая платформа, основанная на создании лекарственных препаратов, содержащих наноструктурированные металлы, в частности, их наноразмерные коллоидные формы. Такие препараты обладают пролонгированным бактерицидным и фунгицидным действием [15, 16]. Их ключевым преимуществом по сравнению с классическими антимикробными средствами, включая антибиотики, является способность эффективно преодолевать микробную резистентность. Это

Таблица. Схema постановки эксперимента в системе биокультивирования RTS-8
Table. Scheme of experimental setup in the RTS-8 biocultivation system

Раствор / Solution	Концентрация CeO_2 , мкг/мл / CeO_2 concentration, mcg/ml	Способ приготовления / Method of preparation
Рабочий раствор / Working solution	100 000	1 г порошка + бульон до 10 мл / 1 g powder + broth up to 10 ml
Разведение 1:100 / Dilution 1:100	1000	0,1 мл рабочего + 9,9 мл бульона / 0.1 ml working + 9.9 ml broth
Разведение 1:1000 / Dilution 1:1000	100	0,1 мл рабочего + 99,9 мл бульона / 0.1 ml working + 99.9 ml broth
Разведение 1:10000 / Dilution 1:10000	10	0,1 мл (1:1000) + 9,9 мл бульона / 0.1 ml (1:1000) + 9.9 ml broth

касается как планктонных (свободно плавающих) клеток, так и микробных сообществ, организованных в биопленки, которые крайне устойчивы к большинству традиционных препаратов [17].

Наибольшее практическое применение в этой области нашли наночастицы металлов (например, серебра, золота, цинка, меди и титана) и их оксидов, что отражено в соответствующих исследованиях [18, 19]. Для придания им специфических свойств частицы интегрируют в наноразмерные комплексы и конструкции с заданной геометрией – сферы, трубки, стержни, призмы или шипы. Форма наночастиц напрямую влияет на их взаимодействие с клеточными стенками микроорганизмов и, как следствие, на адгезивную и антимикробную активность [20, 21]. В частности, данный механизм, связанный прежде всего с антиадгезивными свойствами диоксида титана, реализуется при формировании кристаллического покрытия анатаз, что показано со штаммами санитарно-значимых анаэробных бактерий и дрожжевых грибов [21].

Особый интерес в этом ряду представляет наноструктурированный оксид церия (церия диоксид, CeO_2), являющийся перспективным, но пока еще мало изученным агентом. Его уникальность связана со способностью к восстановлению антиоксидантных и прооксидантных свойств в зависимости от условий окружающей среды (т.н. эффект «переключения валентности» $\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$), что потенциально позволяет ему целенаправленно воздействовать на патогены, минимизируя повреждение клеток макроорганизма [22].

Предварительные исследования выявили антимикотическую активность коллоидных растворов церия выявили не только антибактериальную, но и потенциально антимикотическую активность при использовании миллимолярных растворов CeO_2 (1,0 мМ) [23]. Перспективные образцы таких наноматериалов, в частности, разрабатываются и производятся в Институте общей и неорганической химии им. Н.С.Курнакова РАН, что открывает возможности для создания новых отечественных антимикотиков [24, 25].

Цель исследования: оценка антифунгальной активности наночастиц оксида церия в отношении клинически значимых дрожжевых грибов рода *Candida*, включая анализ влияния на кинетику роста и жизнеспособность клеток, с использованием метода автоматизированного мониторинга в реальном времени.

Материалы и методы

Для проведения исследования использовали референтный штамм *C. albicans* ATCC 10237 из коллекции «ГКПМ-Оболенск» (ФБУН ГНЦ ПМБ Роспотребнадзора, Оболенск). Оценку антифунгальной активности проводили методом

автоматизированного мониторинга кинетики роста референтного штамма с использованием системы программируемого культивирования RTS-8 (Biosan, Латвия) в реальном времени. Общий объем жидкости в стерильных культивационных пробирках составлял 10 мл. Условия инкубации: температура $37,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$, скорость вращения 200 об./мин с реверсивным движением для гомогенизации суспензии. Продолжительность эксперимента – 36 ч. Для каждого варианта опыта использовали не менее 5 независимых повторностей ($n \geq 5$). Рост бластоспор грибов контролировали неинвазивно с помощью встроенной инфракрасной оптической системы ($\lambda = 850$ нм), измеряя оптическую плотность (OD, ед. МакФарланда) каждые 55 мин.

В работе использовали электростатически стабилизированный золь (изготовлен НИИ общей и неорганической химии РАН), содержащий однофазный диоксид церия (PDF2 34-0394) с исходным размером частиц CeO_2 $3,5 \pm 0,5$ нм. Используемый золь диоксида церия (рН 3,0) характеризовался высокой стабильностью, о чем свидетельствовало значение ζ -потенциала, равное $40,1 \pm 1,3$ мВ [25].

В исследовании использован уникальный аппаратный научно-исследовательский комплекс НИИ биологии гена РАН.

Состав экспериментальных образцов представлен в таблице.

На основе кинетических кривых идентифицировали ключевые фазы роста и размножения с одновременным аппаратным анализом в реальном времени следующих параметров: длительность лаг-фазы (время до начала экспоненциального роста); максимальная скорость роста (μ_{max} , тангенс угла наклона кривой в логарифмической фазе); максимальная оптическая плотность (α , значение OD в стационарной фазе). Для установления корреляции между OD и количеством жизнеспособных бластоспор грибов в точках, соответствующих параметру β (OD при M-концентрации), проводили высеивание на чашки с питательным агаром с последующим подсчетом колониеобразующих единиц.

Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 10.0 (StatSoft Inc., США). Проверку данных на нормальность распределения выполняли с помощью критерия Шапиро–Уилка. Для сравнения кинетических параметров между контрольной и опытными группами применяли непараметрический H-критерий Краскела–Уоллиса с последующим пост-хок анализом (поправка Данна). Данные представлены в виде медианы и межквартильного размаха (IQR). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

На основе комплексного анализа кинетики роста и статистической обработки данных было установлено выраженное

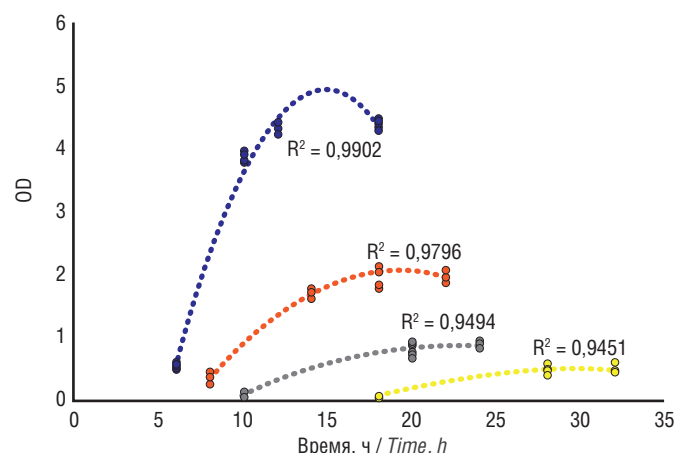


Рис. 1. Рост культуры *C. albicans* в питательном бульоне в присутствии nano- CeO_2 : без добавок (синий цвет), 100 мкг/мл (оранжевый), 1000 мкг/мл (серый), 10000 мкг/мл (желтый). Полиномиальный тренд.

Fig. 1. *C. albicans* growth in nutrient broth in the presence of nano- CeO_2 (polynomial trend): no additives (blue), 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (orange), 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (gray), 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (yellow). Polynomial trend.

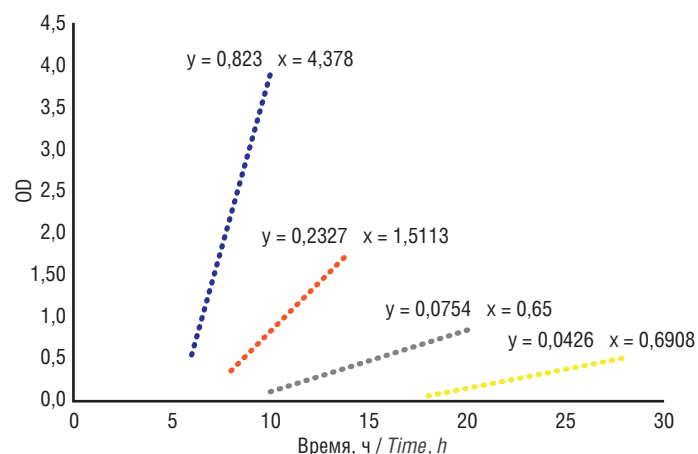


Рис. 2. Максимальные скорости роста культур *C. albicans* в питательном бульоне в присутствии nano- CeO_2 : без добавок (синий цвет), 100 мкг/мл (оранжевый), 1000 мкг/мл (серый), 10000 мкг/мл (желтый).

Fig. 2. Maximum growth rates of *C. albicans* cultures in nutrient broth in the presence of nano- CeO_2 : without additives (blue), 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (orange), 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (grey), 10000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (yellow).

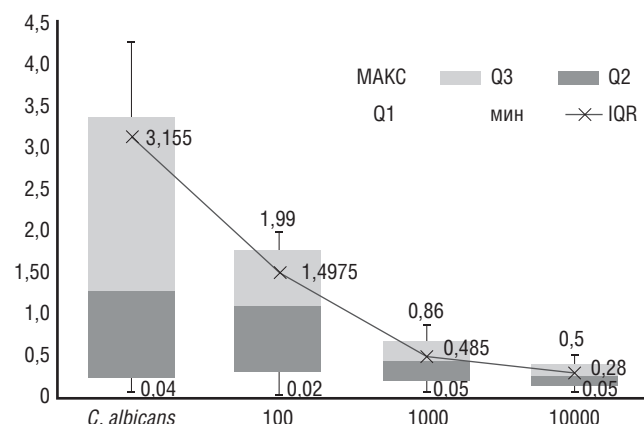


Рис. 3. Определение значения межквартильного диапазона при культивировании *C. albicans* при различных степени разведения церия в питательном бульоне.

Fig. 3. Determination of the interquartile range value during the cultivation of *C. albicans* at different degrees of cerium dilution in nutrient broth.

дозозависимое ингибирующее действие наночастиц оксида церия на рост референтного штамма дрожжевых грибов *C. albicans* ATCC 10237.

Визуальный анализ полиномиальных трендов (рис. 1) демонстрирует, что при высоких концентрациях nano- CeO_2 в питательной среде происходило не только статистически значимое снижение максимальной оптической плотности культуры, но и изменение общей динамики роста и размножения грибов. В опытных группах наблюдалось не только подавление накопления биомассы, но и существенное изменение морфологии кинетических кривых, характеризующееся задержкой выхода на экспоненциальную фазу и более ранним переходом в стационарную фазу развития.

Количественная оценка скорости роста грибов подтвердила выраженное ингибирующее действие наночастиц церия. Анализ угла наклона прямой в экспоненциальной фазе (рис. 2) показал дозозависимое снижение максимальной скорости роста и размножения (μ_{max}), в то время как расчет межквартильного диапазона (рис. 3) продемонстрировал уменьшение вариабельности показателей оптической плотности в логарифмической фазе роста и размножения. Аппроксимация данных методом линейной регрессии дополнительно верифицировала эти наблюдения, выявив высокую степень корреляции между концентрацией nano- CeO_2 и снижением тангенса угла наклона кривых роста и размножения грибов.

Статистический анализ с использованием Н-критерия Краскела–Уоллиса подтвердил высокую значимость наблюдаемых эффектов. Для всех ключевых параметров кинетической кривой были получены статистически значимые различия между контрольной и опытными группами. Наибольшие различия наблюдались для точки β логарифмической фазы ($p = 0,0005$), что свидетельствует о выраженном влиянии наночастиц на достижение культурой М-концентрации. Диаграммы размаха наглядно иллюстрируют дозозависимое снижение значений OD в точках «ускоренное развитие», α и β , причем эффект проявлялся уже при минимальной тестируемой концентрации 10 мкг/мл и усиливался с ее увеличением.

Полученные результаты позволяют предположить, что механизм антифунгального действия nano- CeO_2 связан не только с подавлением конечного выхода биомассы, но и с нарушением нормальной прогрессии клеточного цикла дрожжевых клеток, что проявляется в увеличении продолжительности лаг-фазы и снижении скорости деления клеток в экспоненциальной фазе роста. Особый интерес представляет выявленная способность наночастиц церия подавлять рост культуры даже в низких концентрациях, что открывает перспективы для их применения в качестве эффективного антимикотического средства с минимальными цитотоксическими эффектами в отношении макроорганизма.

Обсуждение

Проведенное исследование демонстрирует выраженную противогрибковую активность наночастиц оксида церия в отношении исследуемого штамма *C. albicans*. Полученные данные свидетельствуют о дозозависимом ингибирующем эффекте nano- CeO_2 на все ключевые параметры роста грибковой популяции. Особого внимания заслуживает тот факт,

что статистически значимые различия наблюдались уже при минимальной тестовой концентрации (10 мкг/мл), что свидетельствует о высокой фунгицидной эффективности исследуемого препарата.

Уникальность выявленного действия заключается в комплексном характере подавления роста грибковой культуры. Для всех образцов показано статистически значимое различие при достижении значений, сопоставимых с М-концентрацией, изменение которой свидетельствует о существенном снижении генеративной активности исследуемых грибковых популяций. Это подтверждается значительным увеличением продолжительности лаг-фазы и снижением μ_{max} в опытных группах. При сравнении образцов между собой отмечались четкие различия в наступлении отдельных периодов и фаз роста и размножения популяций, а также статистически значимая разница в значениях OD при анализе ключевых точек эксперимента в зависимости от концентрации.

Объяснение выявленных эффектов, по-видимому, кроется в уникальных физико-химических свойствах наноматериалов [19]. Малый размер частиц (1–100 нм) позволяет им преодолевать большинство физиологических барьеров и эффективно взаимодействовать с клеточными структурами патогенов, что имеет принципиальное значение при системном характере микозов. Высокое соотношение площади поверхности к объему увеличивает возможности проявления их химической активности при взаимодействии с мембранами и клеточными стенками грибов [20].

Механизм антифунгального действия нано- CeO_2 , вероятно, связан с несколькими параллельными процессами [22]. Согласно данным литературы, наночастицы металлов могут накапливаться в мембране микроорганизмов, что приводит к изменению ее проницаемости, проникать через клеточную стенку и повреждать внутриклеточные структуры. Особенностью церия является его способность к «переключению валентности» ($\text{Ce}^{3+}/\text{Ce}^{4+}$), что может индуцировать выброс активных форм кислорода, оказывающих губительное действие на микроорганизмы [23, 24].

Важнейшим преимуществом наночастиц церия является принципиально иной механизм действия по сравнению с традиционными антимикотиками. Развитие резистентности к подобным компонентам маловероятно, так как их активность обусловлена фундаментальными физико-химическими процессами (такими как генерация активных форм кислорода и прямое повреждение клеточных мембран), которые не требуют специфического связывания с молекулярными мишенями и, следовательно, не могут быть легко обойдены патогенами с помощью классических механизмов устойчивости [24].

Полученные результаты открывают перспективы для создания новых отечественных противогрибковых препаратов на основе наночастиц оксида церия. Особенно актуально их применение в условиях растущей антифунгальной резистентности и ограниченности существующего арсенала антимикотиков. Дальнейшие исследования должны быть направлены на изучение специфических молекулярных механизмов действия нано- CeO_2 на грибковые клетки, а также оценку их цитотоксичности и эффективности *in vivo*.

Проведенное исследование с применением современной методики автоматизированного программируемого культи-

рования позволило получить репрезентативные данные о воздействии наночастиц церия на рост и развитие грибковой популяции *C. albicans*. Экспериментально установлено, что все исследуемые концентрации наноструктурированного церия проявляют выраженную антифунгальную активность в отношении тест-культуры. Выявлена четкая дозозависимая динамика ингибирующего действия: в низких концентрациях препарат оказывает преимущественно фунгистатический эффект, тогда как при увеличении концентрации отмечена тенденция к проявлению фунгицидной активности. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего изучения наночастиц церия в качестве основы для разработки новых эффективных противогрибковых препаратов.

Выводы

Методом автоматизированного мониторинга кинетики роста доказано дозозависимое ингибирующее действие наночастиц церия на клинический изолят *C. albicans*.

Установлен порог фунгистатической активности нано- CeO_2 , проявляющийся уже при концентрации 10 мкг/мл, что характеризуется достоверным увеличением продолжительности лаг-фазы и снижением максимальной скорости роста культуры.

Выявлена способность наночастиц церия в более высоких концентрациях (100–1000 мкг/мл) проявлять фунгицидные свойства, выражающиеся в значительном подавлении накопления биомассы и нарушении нормальной прогрессии клеточного цикла.

Показано, что противогрибковая активность нано- CeO_2 реализуется через комплексное воздействие на ключевые параметры роста грибковой популяции, включая отсрочку достижения М-концентрации и снижение максимальной оптической плотности культуры.

Полученные результаты обосновывают перспективность дальнейших исследований наночастиц оксида церия как потенциального средства для преодоления лекарственной устойчивости патогенных грибов.

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. Васильева НВ, Тараскина АЕ, Богомолова ТС, Выборнова ИВ, Пчелин ИМ, Рябинин ИА, и др. Формирование резистентности к азолам клинического изолята *Candida auris* – возбудителя кандидемии. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2020;9(2(33)):70-76. DOI: 10.33029/2305-3496-2020-9-2-70-76
2. Тен М, Шадривова ОВ, Панова ЮА, Десятник ЕА, Митрофанов ВС, Игнатьева СМ, и др. Инвазивный аспергиллез у иммунокомпетентного пациента (описание клинического случая и обзор литературы). Проблемы медицинской микологии. 2025;27(1):21-27. DOI: 10.24412/1999-6780-2025-1-21-27
3. Шадривова ОВ, Рачина СА, Стрелкова ДА, Панчишина КА, Гусев ДА, Васькова МА, и др. Инвазивный аспергиллез у больных COVID-19 в отделениях реанимации и интенсивной терапии: результаты многоцентрового исследования. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2022;24(4):295-302. DOI: 10.36488/смас.2022.4.295-302
4. Burnham JP, Wallace MA, Fuller BM, Shupe A, Burnham CD, Kollef MH. Clinical Effect of Expedited Pathogen Identification and Susceptibility Testing for Gram-Negative Bacteremia and Candidemia by Use of the Accelerate Pheno™ System. J Appl Lab Med. 2019 Jan;3(4):569-579. DOI: 10.1373/jalm.2018.027201
5. Camargo GAdCG, Silva NLC, de Miranda ALP, Tributino JLM, Colombo NH, Duque C. Periodontopathogens, *Candida* spp. and immunological aspects in Type 2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis. Brazilian Journal of Oral Sciences. 2016;15(3):226-233. DOI: 10.20396/bjos.v15i3.8649993
6. Mahalingam SS, Jayaraman S, Pandiyan P. Fungal Colonization and Infections Interactions with Other Human Diseases. Pathogens. 2022 Feb 6;11(2):212. DOI: 10.3390/pathogens11020212
7. Slazhneva E, Tikhomirova E, Tsarev V, Orekhova L, Loboda E, Atrushkevich V. *Candida* species detection in patients with chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. Clinical and Experimental Dental Research. 2022;8(6):1354-1375. DOI: 10.1002/cre2.635
8. Patel M. Oral cavity and *Candida albicans*: colonisation to the development of infection. Pathogens. 2022;11(3):335. DOI: 10.3390/pathogens11030335
9. Ипполитов ЕВ, Царева ТВ, Лалиева ЗЭ, Ревазова ЗЭ, Царев ВН. Особенности пародонтопатогенного микробиома у пациентов с хроническим пародонтизом в постковидном периоде. Клиническая лабораторная диагностика. 2025;70(10):692-700. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-10-692-700
10. Ушаков РВ, Царев ВН, Ушакова ТВ, Царева ТВ, Ушаков АР, Завадский РВ, и др. Системная противогрибковая терапия пациентов с микозами слизистой оболочки рта и пародонта кандидозной этиологии. Медицинский алфавит. 2021;24:70-77. DOI: 10.33667/2078-5631-2021-24-70-76
11. Kessler SQS, Lang PM, Dal-Pizzol TS, Montagner F. Resistance profiles to antifungal agents in *Candida albicans* isolated from human oral cavities: systematic review and meta-analysis. Clin Oral Investig. 2022 Nov;26(11):6479-6489. DOI: 10.1007/s00784-022-04716-2
12. Mashaly GE, Zeid MS. *Candida albicans* Genotyping and Relationship of Virulence Factors with Fluconazole Tolerance in Infected Pediatric Patients. Infect Drug Resist. 2022 Apr 21;15:2035-2043. DOI: 10.2147/IDR.S344998
13. Горемыкина ЕА, Слукин ПВ, Хохлова ОЕ, Фурсова НК. База данных «Генетические детерминанты вирулентности и устойчивости к антимикотикам клинических штаммов *Candida* spp.». Бактериология. 2023;8(3):41-47. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-3-41-47
14. Pereira R, Dos Santos Fontenelle RO, de Brito EHS, de Moraes SM. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. J Appl Microbiol. 2021 Jul;131(1):11-22. DOI: 10.1111/jam.14949
15. Долгалев АА, Христофорандо ДЮ, Диденко НН, Чониашвили ДЗ, Зеленский АК. Исследование биосовместимости покрытий для металлических имплантатов на основе технологии атомно-слоевого осаждения в зависимости от свойств подложки. Клиническая стоматология. 2025;28(3):128-132. DOI: 10.37988/1811-153X_2025_3_128
16. Царева ТВ, Ипполитов ЕВ, Козодаев МГ, Царева ВВ, Подпорин МС, Царев ВН. Сравнительная характеристика антимикробных свойств покрытия диоксида титана в форме анатаз на поверхности титана и его сплавов. Клиническая стоматология. 2025;28(1):186-195. DOI: 10.37988/1811-153X_2025_1_186
17. Teodorowicz P, Tokarska-Rodak M, Michaluk E, Marta Zarębska, Plewik D, Grudniewski T, et al. Assessment of nanomechanical properties of *Candida albicans* as an element of the oral mycobiota in healthy subjects – a preliminary study. Anim Sci Pap Rep ASPR. 2023;41(2):165-178. DOI: 10.2478/aspr-2023-0006
18. Ржеусский СЭ, Черных ТФ, Буковская ЮА, Богданова ОЮ. Формирование устойчивости грамотрицательных микроорганизмов к препаратам на основе серебра. Бактериология. 2025;10(1):26-29. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-26-29
19. Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. Int J Nanomedicine. 2020 Apr 17;15:2555-2562. DOI: 10.2147/IJN.S246764
20. Wang N, Fuh JYH, Dheen ST, Senthil Kumar A. Functions and applications of metallic and metallic oxide nanoparticles in orthopedic implants and scaffolds. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2021 Feb;109(2):160-179. DOI: 10.1002/jbm.b.34688
21. Царев ВН, Подпорин МС, Царева ТВ, Царева ВВ, Козодаев МГ, Ипполитов ЕВ. Антиадгезивное и антимикробное действие покрытия из оксида титана с кристаллической структурой анатаз в экспериментах *in vitro* для имплантируемых медицинских изделий. Клиническая стоматология. 2024;27(3):6-13. DOI: 10.37988/1811-153X_2024_3_6
22. Krishnamoorthy K, Veerapandian M, Zhang LH, Yan K, Kim SJ. Surface chemistry of cerium oxid nancube: toxicity against pathogenic bacteria and their mechanistic study. J of Industrial and Engineering Chemistry. 2013. DOI: 10.1016/j.iej.2013.12.043
23. Babenko LP, Zhlobak NM, Shcherbakov AB, Voychuk SI, Lazarenko LM, Spivak MY. Antibacterial activity of cerium colloids against opportunistic microorganisms *in vitro*. Mikrobiol Z. 2012 May-Jun;74(3):54-62.
24. Щербakov AB, Иванова ОС, Спивак ИЯ, Козик ВВ, Иванов ВК. Антибактериальная и противовирусная активность нанокристаллического диоксида церия. В кн.: Синтез и биомедицинские применения нанодисперсного диоксида церия. Томск: Издательский дом Томского ГУ, 2016;435-469.
25. Созарукова ММ, Проскурнина ЕВ, Баранчикова АЕ, Иванов ВК. Антиоксидантная активность конъюгатов наночастиц диоксида церия с сывороточным альбумином человека, выделенным из биологических жидкостей. Журнал неорганической химии. 2023;68(10):1504-1512. DOI: 10.31857/S0044457X23600871

References

1. Vasilyeva NV, Taraskina AE, Bogomolova TS, Vybornova IV, Pchelin IM, Ryabinin IA, et al. The development of resistance to azoles of the clinical isolate *Candida auris* – the causative agent of candidaemia. Infectious Diseases: News, Opinions, Training. 2020;9(2(33)):70-76. DOI: 10.33029/2305-3496-2020-9-2-70-76 (In Russian).
2. Ten M, Shadrivova OV, Panova YA, Desyatnik EA, Mitrofanov VS, Ignatieva SG, et al. Invasive aspergillosis in immunocompetent patient (description of the clinical case and literature review). Problems in Medical Mycology. 2025;27(1):21-27. DOI: 10.24412/1999-6780-2025-1-21-27 (In Russian).
3. Shadrivova OV, Rachina SA, Strelkova DA, Panchishina KA, Gusev DA, Vashukova MA. Invasive aspergillosis in patients with COVID19 in intensive care units: results of a multicenter study. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2022;24(4):295-302. DOI: 10.36488/смас.2022.4.295-302 (In Russian).
4. Burnham JP, Wallace MA, Fuller BM, Shupe A, Burnham CD, Kollef MH. Clinical Effect of Expedited Pathogen Identification and Susceptibility Testing for Gram-

- Negative Bacteremia and Candidemia by Use of the Accelerate PhenoTM System. J Appl Lab Med. 2019 Jan;3(4):569-579. DOI: 10.1373/jalm.2018.027201
5. Camargo GAdCG, Silva NLC, de Miranda ALP, Tributino JLM, Colombo NH, Duque C. Periodontopathogens, *Candida* spp. and immunological aspects in Type 2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis. Brazilian Journal of Oral Sciences. 2016;15(3):226-233. DOI: 10.20396/bjos.v15i3.8649993
6. Mahalingam SS, Jayaraman S, Pandiyan P. Fungal Colonization and Infections Interactions with Other Human Diseases. Pathogens. 2022 Feb 6;11(2):212. DOI: 10.3390/pathogens11020212
7. Slazhneva E, Tikhomirova E, Tsarev V, Orekhova L, Loboda E, Atrushkevich V. *Candida* species detection in patients with chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. Clinical and Experimental Dental Research. 2022;8(6):1354-1375. DOI: 10.1002/cre2.635
8. Patel M. Oral cavity and *Candida albicans*: colonisation to the development of infection. Pathogens. 2022;11(3):335. DOI: 10.3390/pathogens11030335
9. Ippolitov EV, Tsareva TV, Lalieva ZE, Revazova ZE, Tsarev VN. Features of periodontopathogenic microbiome in patients with chronic periodontitis in the post-COVID period. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2025;70(10):692-700. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-10-692-700 (In Russian).
10. Ushakov RV, Tsarev VN, Ushakova TV, Tsareva TV, Ushakov AR, Zavatsky RV, et al. Systemic antimycotic therapy of patients with mycosis of the oral mucosa and periodontal *Candida* etiology. Medical Alphabet. 2021;24:70-77. DOI: 10.33667/2078-5631-2021-24-70-76 (In Russian).
11. Kessler SQS, Lang PM, Dal-Pizzol TS, Montagner F. Resistance profiles to antifungal agents in *Candida albicans* isolated from human oral cavities: systematic review and meta-analysis. Clin Oral Investig. 2022 Nov;26(11):6479-6489. DOI: 10.1007/s00784-022-04716-2
12. Mashaly GE, Zeid MS. *Candida albicans* Genotyping and Relationship of Virulence Factors with Fluconazole Tolerance in Infected Pediatric Patients. Infect Drug Resist. 2022 Apr 21;15:2035-2043. DOI: 10.2147/IDR.S344998
13. Goremykina EA, Slukin PV, Khokhlova OE, Fursova NK. The database «Genetical determinants of virulence and antimicotic resistance in clinical *Candida* spp. strains». Bacteriology. 2023;8(3):41-47. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-3-41-47 (In Russian).
14. Pereira R, Dos Santos Fontenelle RO, de Brito EHS, de Morais SM. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. J Appl Microbiol. 2021 Jul;131(1):11-22. DOI: 10.1111/jam.14949
15. Dolgalev AA, Christophorando DYU, Didenko NN, Choniashvili DZ, Zelensky AK. Biocompatibility study of coatings obtained by atomic layer deposition on titanium implants made of various alloys. Clinical Dentistry. 2025;28(3):128-132. DOI: 10.37988/1811-153X_2025_3_128 (In Russian).
16. Tsareva TV, Ippolitov EV, Kozodaev MG, Tsareva VV, Podporin MS, Tsarev VN. Comparative characteristics of antimicrobial properties of titanium dioxide coating in the anatase form on the surface of titanium and its alloys. Clinical Dentistry. 2025;28(1):186-195. DOI: 10.37988/1811-153X_2025_1_186 (In Russian).
17. Teodorowicz P, Tokarska-Rodak M, Michaluk E, Marta Zarębska, Plewik D, Grudniewski T, et al. Assessment of nanomechanical properties of *Candida albicans* as an element of the oral mycobiota in healthy subjects – a preliminary study. Anim Sci Pap Rep ASPR. 2023;41(2):165-178. DOI: 10.2478/aspr-2023-0006
18. Rzhessky SE, Chernykh TF, Bukovskaya YuA, Bogdanova OYu. Formation of resistance of gram-negative microorganisms to silver based drugs. Bacteriology. 2025;10(1):26-29. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-26-29 (In Russian).
19. Yin IX, Zhang J, Zhao IS, Mei ML, Li Q, Chu CH. The Antibacterial Mechanism of Silver Nanoparticles and Its Application in Dentistry. Int J Nanomedicine. 2020 Apr 17;15:2555-2562. DOI: 10.2147/IJN.S246764
20. Wang N, Fuh JYH, Dheen ST, Senthil Kumar A. Functions and applications of metallic and metallic oxide nanoparticles in orthopedic implants and scaffolds. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2021 Feb;109(2):160-179. DOI: 10.1002/jbm.b.34688
21. Tsarev VN, Podporin MS, Tsareva TV, Tsareva VV, Kozodaev MG, Ippolitov EV. Antiadhesive and antimicrobial effect of titanium oxide coating with anatase structure in *in vitro* experiments for medical implants. Clinical Dentistry. 2024;27(3):6-13. DOI: 10.37988/1811-153X_2024_3_6 (In Russian).
22. Krishnamoorthy K, Veerapandian M, Zhang LH, Yan K, Kim SJ. Surface chemistry of cerium oxid nanjcube: toxicity against pathogenic bacteria and their mechanistic study. J of Industrial and Engineering Chemistry. 2013. DOI: 10.1016/j.iej.2013.12.043
23. Babenko LP, Zhlobak NM, Shcherbakov AB, Voychuk SI, Lazarenko LM, Spivak MY. Antibacterial activity of cerium colloids against opportunistic microorganisms *in vitro*. Mikrobiol Z. 2012 May-Jun;74(3):54-62.
24. Shcherbakov AB, Ivanova OS, Spivak IYa, Kozik VV, Ivanov VK. Antibacterial and antiviral activity of nanocrystalline cerium dioxide. In: Synthesis and biomedical applications of nanodispersed cerium dioxide. Tomsk: Publishing house of Tomsk State University, 2016;435-469. (In Russian).
25. Sozarukova MM, Proskurnina EV, Baranchikov AE, Ivanov VK. Antioxidant activity of conjugates of cerium dioxide nanoparticles with human serum albumin isolated from biological fluids. Russian Journal of Inorganic Chemistry. 2023;68(10):1504-1512. DOI: 10.31857/S0044457X23600871 (In Russian).

Информация о соавторах:

Базикян Эрнест Арамович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой хирургической стоматологии и имплантологии Научно-образовательного института непрерывного профессионального образования им. Н.Д.Ющука, заведующий лабораторией медицинской кибернетики и цифровых технологий НИИ «Технобиомед»
ORCID: 0000-0002-8035-0638

Подпорин Михаил Сергеевич, кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии Научно-образовательного института фундаментальной медицины им. В.И.Покровского
ORCID: 0000-0003-1737-0887

Саркисян Андрей Мартиросович, аспирант кафедры хирургической стоматологии и имплантологии Научно-образовательного института непрерывного профессионального образования им. Н.Д.Ющука
ORCID: 0009-0005-6051-0517

Садчикова Елена Рубеновна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, зам. директора ФГБУН «Институт биологии гена» РАН
ORCID: 0000-0003-2039-7108

Иванов Владимир Константинович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, директор ФГБУН «Институт общей и неорганической химии РАН им. Н.С.Курнакова» РАН
ORCID: 0000-0003-2343-2140

Information about co-authors:

Ernest A. Bazikyan, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Surgical Dentistry and Implantology of the N.D.Yushchuk Scientific and Educational Institute of Continuous Professional Education, Head of the Laboratory of Medical Cybernetics and Digital Technologies at the Research Institute of TechnoBioMed
ORCID: 0000-0002-8035-0638

Mikhail S. Podporin, PhD, MD, Senior Lecturer at the Department of Microbiology, Virology, and Immunology at the V.I.Pokrovsky Scientific and Educational Institute of Fundamental Medicine
ORCID: 0000-0003-1737-0887

Andrey M. Sarkisyan, Postgraduate Student of the Department of Surgical Dentistry and Implantology of the N.D.Yushchuk Scientific and Educational Institute of Continuous Professional Education
ORCID: 0009-0005-6051-0517

Elena R. Sadchikova, PhD, MD, Senior Researcher, Deputy Director, Institute of Gene Biology, Russian Academy of Sciences
ORCID: 0000-0003-2039-7108

Vladimir K. Ivanov, MD, PhD, DSc, Professor, Academician of the Russian Academy of Sciences, Director of the Kurnakov Institute of General and Inorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences
ORCID: 0000-0003-2343-2140

Использование фрагментного секвенирования для видовой идентификации патогенных лептоспир в нативном материале

С.Е.Будаева, Н.В.Бренёва, А.В.Ляпунов, С.В.Балахонов

ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, Иркутск, Российская Федерация

Цель. Видовая идентификация возбудителя лептоспироза в материале от мелких млекопитающих без выделения культуры с применением методов фрагментного секвенирования.

Материалы и методы. В работе использован материал, собранный в 2023–2024 гг. в Иркутской области, Приморском крае, Ханты-Мансийском и Ямало-Ненецком автономных округах и Республике Бурятия. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) исследовано 555 проб почек мелких млекопитающих, в 63 (11,4 ± 1,81%) из которых была обнаружена ДНК патогенных лептоспир. Секвенированы 9 участков генов из трех основных международных протоколов мультилокусного сиквенс-типирования в 17 ПЦР-положительных пробах (27,0 ± 5,59%). Для определения вида лептоспир проведен анализ данных секвенирования методом выравнивания *in silico* в программе BioEdit 7.7.1 и сравнения с аллельными вариантами *Leptospira* spp. из базы данных PubMLST, а также с генными вариантами из GenBank с помощью сервиса BLAST. Проведен филогенетический анализ по фрагментам генов *glmU*, *mreA* и *rrs2*.

Результаты. При сравнении секвенированных нуклеотидных последовательностей с базой данных GenBank во всех исследуемых образцах ДНК определился вид *L. borgpetersenii* с процентным соотношением 95,86–100,00%. Филогенетический анализ по фрагментам генов *glmU*, *mreA* и *rrs2* подтвердил видовую принадлежность лептоспир в исследуемых образцах.

Заключение. На территориях Иркутской области, Приморского края, Ямало-Ненецкого автономного округа и Республики Бурятия впервые с применением метода фрагментного секвенирования в материале от мелких млекопитающих без выделения культуры идентифицирован возбудитель лептоспироза *L. borgpetersenii*. Показана дифференцирующая способность генов *glmU*, *mreA* и *rrs2*.

Ключевые слова: лептоспиры, нативный материал, видовая идентификация, фрагментное секвенирование, филогенетика, MLST

Для цитирования: Будаева С.Е., Бренёва Н.В., Ляпунов А.В., Балахонов С.В. Использование фрагментного секвенирования для видовой идентификации патогенных лептоспир в нативном материале. Бактериология. 2026; 11(1): 79–84. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-79-84

Use of fragment sequencing for species identification of pathogenic leptospires in native material

S.E.Budaeva, N.V.Breneva, A.V.Lyapunov, S.V.Balakhonov

Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, Irkutsk, Russian Federation

The aim is the species identification of the causative agent of leptospirosis in material from small mammals without culture isolation using fragment sequencing methods.

Materials and methods. The work uses material collected in 2023–2024 in the Irkutsk Region, Primorsky Krai, Khanty-Mansi and Yamalo-Nenets Autonomous Okrugs and the Republic of Buryatia. 555 small mammalian kidney samples were examined by PCR, of which 63 (11.4 ± 1.81%) contained DNA from pathogenic leptospira. Nine gene regions from the three main international protocols of multilocus sequence typing were sequenced in 17 PCR-positive samples (27.0 ± 5.59%). To determine the type of leptospira, the sequencing data was analyzed using the *in silico* alignment method in the BioEdit 7.7.1 program and compared with allelic variants of *Leptospira* spp. from the PubMLST database, as well as with gene variants from GenBank using the BLAST service. A phylogenetic analysis was performed on fragments of the *glmU*, *mreA* and *rrs2* genes.

Results. When comparing the sequenced nucleotide sequences with the GenBank database, the species *L. borgpetersenii* was determined in all the studied DNA samples with a percentage of 95.86–100.00%. Phylogenetic analysis of fragments of the *glmU*, *mreA* and *rrs2* genes confirmed the specific identity of *Leptospira* in the studied samples.

Для корреспонденции:

Будаева Софья Евгеньевна, младший научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78
ORCID: 0000-0003-3588-8145

Статья поступила 11.11.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Sofia E. Budaeva, Junior Researcher, Epidemiology Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor

Address: 78 Trilisser str., Irkutsk, 664047, Russian Federation
ORCID: 0000-0003-3588-8145

The article was received 11.11.2025, accepted for publication 30.03.2026

Conclusion. In the territories of the Irkutsk Region, Primorsky Krai, Yamalo-Nenets Autonomous Okrug and the Republic of Buryatia, the causative agent of leptospirosis *L. borgpetersenii* was identified for the first time using the method of fragment sequencing in material from small mammals without culture isolation. The differentiating ability of the *glmU*, *mreA* and *rrs2* genes has been shown.

Key words: *leptospira*, native material, species identification, fragment sequencing, phylogenetics, MLST

For citation: Budaeva S.E., Breneva N.V., Lyapunov A.V., Balakhonov S.V. Use of fragment sequencing for species identification of pathogenic leptospires in native material. Bacteriology. 2026; 11(1): 79–84. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-79-84

Лептоспироз, который вызывают патогенные бактерии рода *Leptospira*, является одним из самых распространенных и значимых зоонозов в мире. Мелкие млекопитающие играют ключевую роль в циркуляции лептоспир в качестве резервуаров и источников инфекции [1].

Согласно международному определителю бактерий Bergey's, на основании анализа генома род *Leptospira* подразделяется на 22 вида, из них 10 патогенных (*L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. kmetyi*, *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. mayottensis*), 5 промежуточных (*L. inadai*, *L. fainei*, *L. broomi*, *L. licerasiae*, *L. wolffii*) и 7 сапрофитических (*L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbashii*, *L. vanthielii*, *L. terpstrae*, *L. yanagawae*, *L. idonii*) [2].

Для видовой идентификации лептоспир методом полногеномного секвенирования необходимо выделение чистой культуры возбудителя из исследуемого материала, что представляет собой длительный и трудоемкий процесс, значительно затрудняющий изучение генетических особенностей патогена [3]. В рамках эпидемиологического расследования, где важно быстрое получения результата по видовой принадлежности возбудителя, это практически невозможно. В связи с этим необходим поиск альтернативных методов, в т.ч. основанных на анализе фрагментов генома.

Методы фрагментного секвенирования позволяют проводить идентификацию лептоспир при наличии двух или нескольких фрагментов генов. Данные методы перспективно внедрять в лабораторную диагностику, чтобы расширять знания о циркулирующих возбудителях на различных территориях и получать новую информацию о геноме лептоспир. Описано определение вида лептоспир в материале от мелких млекопитающих методом секвенирования участков генов *lipL32*, *secY* и *rpoB* [4–6].

В настоящей работе нами апробирован метод видовой идентификации патогенных лептоспир по генам международных протоколов мультилокусного сиквенса-типирования (Multilocus sequence typing/MLST) в нативном материале от мелких млекопитающих без выделения культуры.

Цель исследования – видовая идентификация возбудителей лептоспирозов в материале от мелких млекопитающих без выделения культуры с применением методов фрагментного секвенирования.

Материалы и методы

В работе использован материал, собранный в 2023–2024 гг. на территориях Иркутской области, Приморского края, Ханты-Мансийского и Ямало-Ненецкого автономных округов (ЯНАО) и Республики Бурятии. Почки 555 мелких млекопитающих были исследованы методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на наличие ДНК патогенных лепто-

спир с применением тест-системы «ЛПС» производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва). Экстракцию ДНК осуществляли согласно требованиям МУ 1.3.2569-09 с помощью набора «РИБО-преп» производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва). Пробы, показавшие положительный результат с пороговым циклом ≤ 15 , были отобраны для фрагментного секвенирования.

Аmplифицировали 13 участков генов из трех основных международных схем MLST (табл. 1) [7–9]. Данные схемы включают в себя гены домашнего хозяйства (*adk*, *icdA*, *glmU*, *pntA*, *mreA*, *secY*, *pfkB*, *sucA*, *tpiA* и *caiB*), гены патогенности (*lipL32* и *lipL41*) и ген *rrs2*, кодирующий 16sРНК. Амплификационную смесь готовили согласно инструкции к набору «Синтол» из расчета на одну пробу: dNTP – 2,5 мкл; 10хПЦР буфер Б – 2,5 мкл; MgCl₂ – 2,5; SynTaq-полимераза – 0,3; ddH₂O – до 25 мкл и праймеры в разведении 10 пМ по 1 мкл. К готовой реакционной смеси добавляли 5 мкл исследуемой ДНК.

Таблица 1. Фрагменты генов, которые применяли в работе
Table 1. Fragments of genes that were used in the work

№	Фрагмент гена / Gene fragment	Праймеры / Primers	Размер фрагмента для MLST, п.н. / Fragment size for MLST, bp
1	<i>glmU</i>	F:GGGCTGGAAAAGGTACACAA R:ACGCAAGCTCCTTTTGAATC	444
2	<i>pntA</i>	F:TAGGAAARATGAAACCRGGAAC R:AAGAAGCAAGATCCACAAYTAC	525
3	<i>sucA</i>	F:TCATTCCACTTYTAGATACGAT R:TCTTTTTTGAATTTTGGACG	640
4	<i>tpiA</i>	F:TTGCAGGAAACTGGAAAATGAAT R:GTTTTACRGAACCHCCGTAGAGAAT	639
5	<i>pfkB</i>	F:CGGAGAGTTTTATAARAAGGACAT R:AGAACACCCGCCGCAAAACAAT	432
6	<i>mreA</i>	F:GGCTCGCTCTYGACGGAAA R:TCCRTAACTCATAAAMGACAAAGG	435
7	<i>caiB</i>	F:CAACTTGCAGAYATAGGAGGAG R:ATTATGTTCCCGTGATYTCG	402
8	<i>adk</i>	F:GGGCTGGAAAAGGTACACAA R:ACGCAAGCTCCTTTTGAATC	531
9	<i>icdA</i>	F:GGGACGAGATGACCAGGAT R:CTTTTTTGGATCCCGAGCTTT	674
10	<i>secY</i>	F:ATGCCGATCATTTTTGCTTC R:CCGTCCTTAATTTTAGACTTCTTC	501
11	<i>lipL32</i>	F:ATCTCCGTTGCACTCTTTGC R:ACCATCATCATCATCGTCCA	450
12	<i>lipL41</i>	F:TAGGAAATTGCGCAGCTACA R:GCATCGAGAGGAATTAACATCA	493
13	<i>rrs2</i>	F:CATGCAAGTCAAGCGGAGTA R:AGTTGAGCCCGCAGTTTTTC	450

Для визуального учета результатов ПЦР с продуктами амплификации проводили горизонтальный гель-электрофорез в 1,5%-й агарозе с окрашиванием бромидом этидия. Далее с образцами, отобранными на этапе гель-электрофореза, ставили сиквенсную реакцию по Сэнгеру на генетическом анализаторе ABI 3500 с набором реагентов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems™).

Для определения вида лептоспир проводился анализ полученных последовательностей методом выравнивания *in silico* в программе BioEdit 7.7.1 и сравнения с аллельными вариантами *Leptospira* spp. из базы данных PubMLST [10], а также на платформе <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> с помощью сервиса Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).

Филогенетический анализ проводили методом максимального правдоподобия (модель GTR в программе MEGA версия 11.0.13) [11–13]. Для сравнения использовали образцы из базы данных PubMLST id: 2, 3, 5, 10, 20, 23, 35, 89, 90, 94, 95, 118, 119, 122, 124, 184, 255, 327, 338, 419, 475, 480, 481, 482, 483, 693, 697, 921, 1082, 1228, 1972, 1988, 1989, 1990.

Статистическая обработка полученных результатов проведена стандартными методами вариационной статистики [14].

Результаты и обсуждение

Всего за 2023–2024 гг. методом ПЦР исследовано 555 проб почек мелких млекопитающих, из которых в 63 (11,4 ± 1,81%) была обнаружена ДНК патогенных лептоспир. Для фрагментного секвенирования отобраны 17 ПЦР-положительных проб (27,0 ± 5,59%) от бурозубки (*Sorex* spp.

L., 1758) и восточно-азиатской мыши (*Apodemus peninsulae* Thomas, 1907) из Иркутской области, 13 полевых мышей (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771) из Приморского края, бурозубки средней (*Sorex caecutiens* Laxmann, 1788) из Республики Бурятия и домовый мыши (*Mus musculus* L., 1758) из ЯНАО. Получены 64 нуклеотидные последовательности, из которых 60 депонированы в национальную базу VGARus под номерами: irkn016161–016165, irkn016167–16174, irkn017640–017654, irkn018015–018048.

Из 13 фрагментов генов в ПЦР амплифицировались 9 в разных образцах ДНК. ПЦР не прошла с праймерами к участкам генов *sucA*, *adk*, *tpiA*, *icdA*. В большинстве случаев удавалось отсекуировать фрагменты генов *mreA* (70,6 ± 11,05% из 17 образцов ДНК), *rrs2*, *secY*, *glmU* (64,7 ± 11,59%), *lipL41* (53,0 ± 12,11%) и *lipL32* (76,5 ± 10,29%). Длина полученных нуклеотидных последовательностей представлена в табл. 2. При сравнении полученных нуклеотидных последовательностей в BLAST у всех исследуемых образцов определился вид *L. borgpetersenii* с процентным соотношением 95,86–100,00%.

С фрагментами генов, полученных из ПЦР-положительных проб почек мелких млекопитающих, проведен филогенетический анализ. В данной работе представлен анализ фрагментов генов *glmU*, *mreA* и *rrs2*, которые перекрывали размер аллелей, предложенных для MLST, и имели до трех одиночных нуклеотидных полиморфизмов внутри анализируемого участка гена (табл. 1).

Из 11 фрагментов *glmU* два (образцы 1 Yanao и 1 UU) полностью совпали с последовательностями аллелей 24 и 26 по 1-й и 2-й схеме MLST, у 4 (образцы 7 РК, 11 РК, 12 РК, 17 РК) обнаружены инсерции/делеции. Еще у 4 фрагментов

Таблица 2. Длина полученных нуклеотидных последовательностей
 Table 2. The length of the obtained nucleotide sequences

№	Образец / Sample	<i>glmU</i>	<i>mreA</i>	<i>caiB</i>	<i>pfkB</i>	<i>pntA</i>	<i>lipL32</i>	<i>lipL41</i>	<i>rrs2</i>	<i>secY</i>
1	7 РК	531	662	–	–	–	408	515	468	476
2	11 РК	531	632	–	–	–	355	498	471	476
3	12 РК	531	685	–	–	–	374	451	480	476
4	17 РК	530	673	–	–	–	377	465	474	476
5	21 РК	444	1506	–	–	525	–	–	1318	–
6	23 РК	444	1506	–	–	–	421	–	–	–
7	25 РК	444	1506	402	532	–	421	–	–	1381
8	26 РК	–	1505	–	–	–	–	–	–	–
9	29 РК	–	–	402	–	–	421	483	1318	1381
10	32 РК	444	1506	402	532	525	443	–	1318	1381
11	36 РК	–	–	–	–	–	421	–	1318	1381
12	37 РК	–	1506	–	–	525	–	–	–	–
13	40 РК	444	–	–	–	–	–	–	–	–
14	48 I	–	–	–	–	–	399	245	481	–
15	72 I	–	–	–	–	–	407	423	461	491
16	1 UU	533	1615	–	–	413	398	425	482	489
17	1 Yanao	533	1661	–	–	–	443	483	–	476
Всего	секвенировано фрагментов / Total fragments sequenced	11	12	3	2	4	13	9	11	11

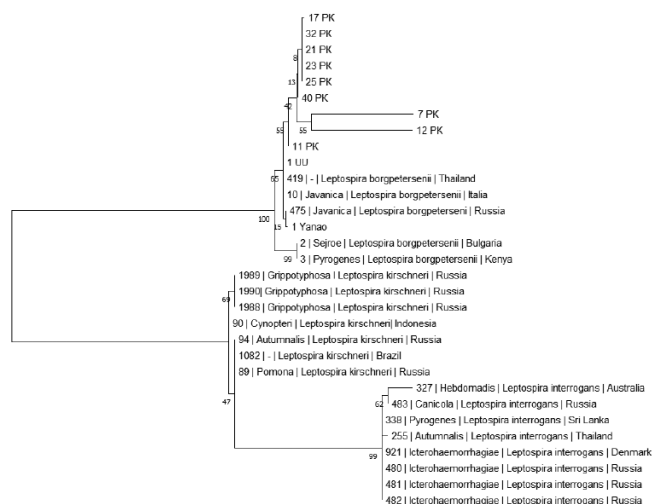


Рис. 1. Филогенетическое дерево максимального правдоподобия с бутстреп-валидацией 500 построено на основании полученных нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *glmU* (7 PK, 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 40 PK, 1 UU, 1 Yanao) и фрагментов из группы сравнения, которые имеют обозначения: id PubMLST / серогруппа / вид / территориальная принадлежность.

Fig. 1. The maximum likelihood phylogenetic tree with 500 bootstrap validation is based on the obtained nucleotide sequence fragments of the *glmU* gene (7 PK, 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 40 PK, 1 UU and 1 Yanao) and fragments from the comparison group, which have the following designations: PubMLST id / serogroup / type / territorial affiliation.

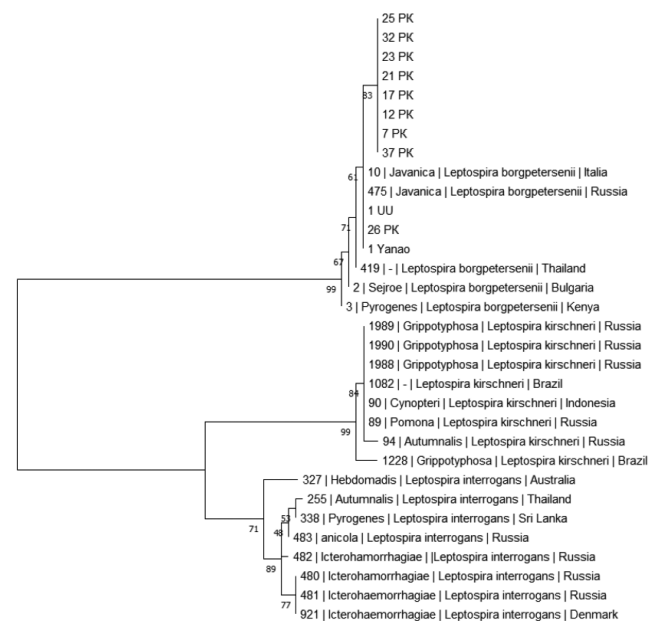


Рис. 2. Филогенетическое дерево максимального правдоподобия с бутстреп-валидацией 500, построенное на основании полученных нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *mreA* (7 PK, 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 37 PK, 1 UU, 1 Yanao) и фрагментов из группы сравнения, которые имеют обозначения: id PubMLST / серогруппа / вид / территориальная принадлежность.

Fig. 2. Phylogenetic maximum likelihood tree with 500 bootstrap validation, based on the obtained nucleotide sequences fragments of the *mreA* gene (7 PK, 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 37 PK, 1 UU, 1 Yanao) and fragments from the comparison group, which have the following designations: PubMLST id / serogroup / type / territorial affiliation.

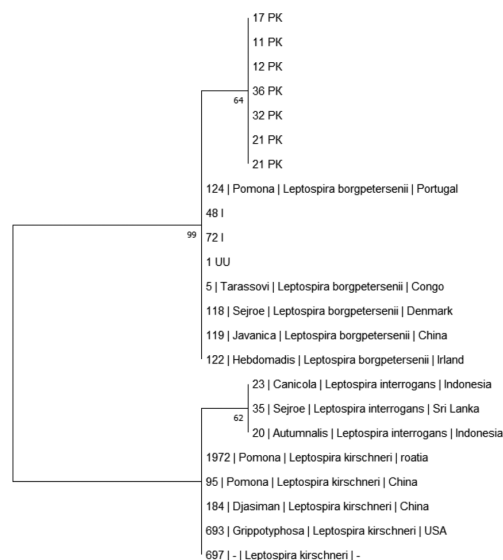


Рис. 3. Филогенетическое дерево максимального правдоподобия с бутстреп-валидацией 500, построенное на основании полученных нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *rrs2* (11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 29 PK, 32 PK, 36 PK, 1 UU, 48 I, 72 I) и фрагментов из группы сравнения, которые имеют обозначения: id PubMLST / серогруппа / вид / территориальная принадлежность.

Fig. 3. Phylogenetic maximum likelihood tree with 500 bootstrap validation, based on the obtained nucleotide sequences fragments of the *rrs2* gene (11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 29 PK, 32 PK, 36 PK, 1 UU, 48 I, 72 I) and fragments from the comparison group, which have the following designations: PubMLST id / serogroup / type / territorial affiliation.

(образцы 21 PK, 23 PK, 25 PK, 40 PK) обнаружено по 1 нуклеотидной замене, у 24 PK – 2 замены. Из 12 фрагментов *mreA* два (1 UU и 1 Yanao) полностью совпали с аллелями 26 и 36 по первым двум схемам MLST, 8 фрагментов (образцы 7 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 37 PK) имеют по 2 SNP – в позиции 195 гуанин заменил аденин и тимин – цитозин в положении 433. У фрагмента 26 PK выявлены инсерции/делеции и по 1-й схеме определился аллель 27. В 11 фрагментах гена *rrs2* установлен аллель 20 у всех образцов, из которых у 7 (образцы 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 29 PK, 32 PK, 36 PK) обнаружена 1 нуклеотидная замена цитозина на тимин в позиции 343. Наличие нуклеотидных полиморфизмов в полученных фрагментах, скорее всего, указывает на погрешности при секвенировании, связанные с выделением ДНК из нативной пробы почки, что не исключает наличие мутаций у исходного возбудителя.

Филогенетическое дерево максимального правдоподобия, построенное по фрагментам гена *glmU* 11 образцов: 9 из Приморского края и 2 из ЯНАО и Республики Бурятия, представлено на рис. 1. Образцы 12 PK и 7 PK отличаются от других образцов из Приморского края и образуют отдельную филогенетическую группу. Все исследуемые образцы распределились вместе с образцами из базы данных PubMLST вида *L. borgpetersenii*, что подтверждает их идентификацию в сервисе BLAST. Для сравнения добавлены фрагменты гена *glmU* других видов лептоспир, которые распространены в России (*L. kirschneri* и *L. interrogans*), и загруженные в базу данных PubMLST наши изоляты (id – 475, 1988, 1989, 1990). Нуклеотидная последовательность гена *glmU* образца из ЯНАО распределилась в группу вместе с изолированным

нами в Иркутской области штаммом (id 475). Две четко сформированные клады разделились на образцы, относящиеся к *L. borgpetersenii*, и изоляты других видов – *L. kirschneri* и *L. interrogans*. Важно отметить, что внутри клады *L. borgpetersenii* все образцы разделились не только территориально, но и по серогруппам – Javanica, Sejroe, Pyrogenes.

В филогенетическом дереве по фрагментам гена *mreA* все образцы расположились в одной группе, кроме трех – по одному из Приморского края (26 РК), Республики Бурятия (1 UU) и ЯНАО (1 Yanao). Они распределились в группу с выделенным нами штаммом из Иркутской области (id 475) и изолятом из Италии (id 10) (рис. 2). Все исследуемые образцы распределились в кладу вместе с *L. borgpetersenii* серогруппы Javanica, вторая клада включает в себя две группы образцов, объединенные по видам *L. interrogans* и *L. kirschneri*, так же как и в филогенетическом дереве по гену *glmU*.

Филогенетическое дерево, построенное на основании нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *rrs2*, также образовало две клады – образцы вида *L. borgpetersenii* и видов *L. interrogans*, *L. kirschneri* (рис. 3). Данное дерево выглядит более консервативным и не образует группы в зависимости от серогрупп. Образцы из Приморского края образовали отдельную группу от образцов из Иркутской области и Республики Бурятия.

Заключение

На территориях Иркутской области, Приморского края, ЯНАО и Республики Бурятия впервые с применением методов фрагментного секвенирования идентифицирован возбудитель лептоспироза без выделения культуры из нативного материала от мелких млекопитающих. Установлено, что во всех отобранных пробах образцы ДНК принадлежат виду *L. borgpetersenii*. Это свидетельствует о широком распространении возбудителя данного вида на исследуемых территориях. Для филогенетического анализа показана дифференцирующая способность генов *glmU*, *mreA* и *rrs2*. Выявление нуклеотидных полиморфизмов во фрагментах исследуемых генов у образцов ДНК лептоспир из Приморского края, ЯНАО и Республики Бурятия, скорее всего, обусловлено погрешностями метода, но не исключает формирования независимых генетических линий внутри вида *L. borgpetersenii* на этих территориях. Данный вопрос требует дальнейшего изучения.

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 подтверждают равное участие на всех этапах подготовки рукописи: разработка концепции, получение и анализ данных, написание и редактирование текста.

Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты настоящей работы, гарантируют надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

Author contributions

All authors contributed equally to the study conception, data collection, analysis, and the writing and editing of the manuscript.

All authors have read and approved the final manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Литература

1. Транквиловский ДВ, Скударева ОН, Иришкова ИЕ, Бренёва НВ, Шарапова НЕ, Корзун ВМ, и др. Природные очаги и многолетний анализ заболеваемости лептоспирозами в Российской Федерации, прогноз на 2025 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2025;3:75-85. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-75-85
2. Picaud M. *Leptospira*. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Online Bergey's Manual Trust. 2017;18. DOI: 10.1002/9781118960608.gbm01244.pub2
3. Бренёва НВ, Киселева ЕЮ, Шаракшанов МБ, Борисов СА, Будаева СЕ, Балахонев СВ. Современные особенности изоляции и идентификации патогенных лептоспир в Сибири и на Дальнем Востоке. Проблемы особо опасных инфекций. 2023;4:62-67. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-62-67
4. Баимова РР, Рябико ЕГ, Останкова ЮВ, Токаревич НК. Оптимизация способа детекции и генотипирования патогенных лептоспир в биологических образцах. Клиническая лабораторная диагностика. 2025;70(3):210-7. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-3-210-217
5. Баимова РР, Рябико ЕГ, Гречишкина ДИ, Кармоков ИА, Халилов ЭС, Лыженко ИС, и др. Выявление и генотипирование патогенных лептоспир, циркулирующих среди грызунов на территории Санкт-Петербурга. Проблемы особо опасных инфекций. 2025;2:72-78. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-72-78
6. Viskontene AL, Radyuk EV, Shapkin OA, Khizhkin EA, Bulanenko VP, Voytsekhovskaya YA, et al. In search of pathogenic *Leptospira* species in Myotis and other vesper bats, Russia. Acta Trop. 2025 Feb;262:107506. DOI: 10.1016/j.actatropica.2024.107506
7. Boonsilp S, Thaipadungpanit J, Amornchai P, Wuthiekanun V, Bailey MS, Holden MT. A single multilocus sequence typing (MLST) scheme for seven pathogenic *Leptospira* species. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(1):e1954. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001954
8. Varni V, Ruybal P, Lauthier JJ, Tomasini N, Brihuega B, Koval A. Reassessment of MLST schemes for *Leptospira* spp. typing worldwide. Infect Genet Evol. 2014;22:216-22. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.08.002
9. Ahmed N, Devi SM, Valverde ML, Vijayachari P, Machang'u RS, Ellis WA, et al. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2006;5:28. DOI: 10.1186/1476-0711-5-28
10. Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. Wellcome Open Res. 2018 Sep 24;3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
11. Nei M. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press. 2000. DOI: 10.1016/S1055-7903(02)00245-2
12. Tamura K. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics. Evolution. 2021. DOI: 10.1093/molbev/msab120
13. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution. 1985;39:783-791. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x

14. Закс Л. Статистическое оценивание. Пер. с нем. Варыгина ВН; науч. ред. и предисл. Адлера ЮП, Горского ВГ. М.: Статистика, 1976.

References

1. Trankvilevsky DV, Skudareva ON, Irishkova IE, Breneva NV, Sharapova NE, Korzun VM, et al. Natural foci and long-term analysis of the leptospirosis incidence in the Russian Federation, forecast for 2025. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2025;3:75-85. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-75-85 (In Russian).
2. Picardeau M. *Leptospira*. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Online Bergey's Manual Trust. 2017;18. DOI: 10.1002/9781118960608.gbm01244.pub2
3. Breneva NV, Kiseleva EYu, Sharakshanov MB, Borisov SA, Budaeva SE, Balakhonov SV. Modern features of pathogenic *Leptospira* isolation and identification in Siberia and the Far East. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2023;4:62-67. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-62-67 (In Russian).
4. Baimova RR, Riabiko EG, Ostankova YuV, Tokarevich NK. Optimization of the method for detection and genotyping of pathogenic *Leptospira* in biological samples. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2025;70(3):210-7. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-3-210-217 (In Russian).
5. Baimova RR, Riabiko EG, Grechishkina DI, Karmokov IA, Khalilov ES, Lyzenko IS, et al. Identification and genotyping of pathogenic *Leptospira* circulating among rodents in the city of St. Petersburg. *Problemy osobo opasnykh infektsii*. 2025;2:72-78. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-72-78 (In Russian).
6. Viskontene AL, Radyuk EV, Shapkin OA, Khizhkin EA, Bulanenko VP, Voytsekhovskaya YA, et al. In search of pathogenic *Leptospira* species in Myotis and other vesper bats, Russia. *Acta Trop*. 2025 Feb;262:107506. DOI: 10.1016/j.actatropica.2024.107506
7. Boonsilp S, Thaipadungpanit J, Amornchai P, Wuthiekanun V, Bailey MS, Holden MT. A single multilocus sequence typing (MLST) scheme for seven pathogenic *Leptospira* species. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(1):e1954. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001954
8. Varni V, Ruybal P, Lauthier JJ, Tomasini N, Brihuega B, Koval A. Reassessment of MLST schemes for *Leptospira* spp. typing worldwide. *Infect Genet Evol*. 2014;22:216-22. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.08.002

9. Ahmed N, Devi SM, Valverde ML, Vijayachari P, Machang'u RS, Ellis WA, et al. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2006;5:28. DOI: 10.1186/1476-0711-5-28
10. Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res*. 2018 Sep 24;3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
11. Nei M. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press. 2000. DOI: 10.1016/S1055-7903(02)00245-2
12. Tamura K. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics. *Evolution*. 2021. DOI: 10.1093/molbev/msab120
13. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985;39:783-791. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x
14. Zaks L. Statistical estimation. Per. s nem. Varygina VN; nauch. red. i predisl. Adlera YuP, Gorskogo VG. M.: Statistika, 1976. (In Russian).

Информация о соавторах:

Бренёва Наталья Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-9207-7536

Ляпунов Александр Валерьевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией природноочаговых вирусных инфекций ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-6947-5771

Балахонов Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, директор института ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-4201-5828

Information about co-authors:

Natalya V. Breneva, PhD, MD, Leading Researcher, Department of Epidemiology, Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0002-9207-7536

Aleksandr V. Lyapunov, PhD in Biological Sciences, Head of the Laboratory of Natural Focal Viral Infections, Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0002-6947-5771

Sergey V. Balakhanov, MD, PhD, DSc, Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0003-4201-5828

НОВОСТИ НАУКИ

Укрепление биобезопасности России

Правительство РФ распорядилось направить Роспотребнадзору в 2026 году 409,1 млн рублей из бюджета на два объекта капитального строительства, которые среди прочего будут заниматься изучением опасных инфекций.

Финансирование пойдет по федеральному проекту «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)». В Воронеже будет построена лаборатория высокого уровня биологической безопасности для оперативной расшифровки и изучения опасных и неизвестных инфекций. Второй объект – комплекс зданий в Симферополе.

Проект «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)» был запущен в июле 2021 года в рамках реализации № 492-ФЗ «О биологической безопасности в РФ». Основной его целью является развитие системы защиты населения от биологических и санитарно-эпидемиологических угроз, а основная задача – создание эффективного барьера для эпидемий внутри страны, в ближнем и дальнем зарубежье.

В цели проекта входит создание сети лабораторий высокого уровня биологической безопасности для оперативной расшифровки и изучения вспышек опасных и неизвестных инфекций. На реализацию тематических мероприятий в 2026 году выделяется более 2,2 млрд рублей, а общее финансирование федерального проекта составляет 12 млрд рублей.

Режим доступа: <https://microbius.ru/news/na-stroitelstvo-ob-ektov-biologicheskoy-bezopasnosti-strany-napravyat-409-mln-rubley>

Генотипирование штаммов возбудителя псевдотуберкулеза, выделенных на территории Российской Федерации, с помощью SNP-маркеров

М.Г.Мелоян¹, А.С.Водошнянов¹, Е.А.Воскресенская², А.Л.Трухачёв¹

¹ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Российская Федерация;

²ФБУН «Санкт-Петербургский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация

В работе использованы данные о 146 штаммах *Yersinia pseudotuberculosis*, среди которых секвенированные нами, а также нуклеотидные последовательности возбудителей псевдотуберкулеза из NCBI. Было разработано программное обеспечение, выявляющее SNP в геномах штаммов *Y. pseudotuberculosis*. Филогенетический анализ 146 штаммов с известным местом выделения и серотипом проводили с помощью алгоритма MST. При использовании авторского программного обеспечения в геномах было выявлено 26 009 SNP, разделяющих 146 штаммов на 14 SNP-кластеров. Анализ кластеров показал, что их можно обозначить как «российские», «азиатские», «европейские» и «межконтинентальные». «Азиатские» и «европейские» кластеры содержат штаммы, выделенные на территории стран Азии и Европы. В «межконтинентальные» кластеры включают штаммы, выделенные на различных континентах. Кластеры с большинством российских штаммов можно отнести к «азиатским». Ряд штаммов из России обнаружены в «европейских» и «межконтинентальных» кластерах.

Ключевые слова: возбудитель псевдотуберкулеза, *Yersinia pseudotuberculosis*, SNP, генотипирование

Для цитирования: Мелоян М.Г., Водошнянов А.С., Воскресенская Е.А., Трухачёв А.Л. Генотипирование штаммов возбудителя псевдотуберкулеза, выделенных на территории Российской Федерации, с помощью SNP-маркеров. Бактериология. 2026; 11(1): 85–91. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-85-91

Genotyping of pseudotuberculosis strains isolated in the Russian Federation using SNP markers

M.G.Meloyan¹, A.S.Vodopyanov¹, E.A.Voskresenskaya², A.L.Trukhachev¹

¹Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор, Rostov-on-Don, Russian Federation;

²Pasteur St. Petersburg Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation

The work used data from 146 strains of *Yersinia pseudotuberculosis*, including those that we have sequenced, as well as nucleotide sequences of pseudotuberculosis pathogens from NCBI. We developed software that identifies SNPs in the genomes of *Y. pseudotuberculosis* strains. Phylogenetic analysis of 146 strains with a known isolation site and serotype was performed using the MST algorithm. When using the author's software, 26009 SNPs were identified in the genomes, dividing 146 strains into 14 SNP clusters. The analysis of the clusters showed that they can be designated as "Russian", "Asian", "European" and "intercontinental". The "Asian" and "European" clusters contain strains isolated from the territories of Asia and Europe. The "intercontinental" clusters include strains isolated on different continents. Clusters with the majority of Russian strains can be classified as "Asian". A number of strains from Russia have been found in "European" and "intercontinental" clusters.

Key words: pathogen of pseudotuberculosis, *Yersinia pseudotuberculosis*, SNP, genotyping

For citation: Meloyan M.G., Vodopyanov A.S., Voskresenskaya E.A., Trukhachev A.L. Genotyping of pseudotuberculosis strains isolated in the Russian Federation using SNP markers. Bacteriology. 2026; 11(1): 85–91. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-85-91

Для корреспонденции:

Мелоян Мисак Геворгович, научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумной институт» Роспотребнадзора

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40
E-mail: meloyan_mg@antiplague.ru
ORCID: 0000-0001-7268-9298

Статья поступила 20.08.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Misak G. Meloyan, Researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор

Address: 117/40 M.Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation
E-mail: meloyan_mg@antiplague.ru
ORCID: 0000-0001-7268-9298

The article was received 20.08.2025, accepted for publication 30.03.2026

Псевдотуберкулез является природно-очаговым инфекционным заболеванием, которое регистрируется в различных климатических зонах мира. В настоящее время псевдотуберкулез в России составляет 1,77% от общего числа природно-очаговых инфекций. В 2024 г. показатель заболеваемости псевдотуберкулезом в среднем по стране был 0,26 на 100 тыс. населения. Вместе с тем на территории России в течение многих лет сохраняется выраженная вариабельность интенсивности эпидемического процесса этого заболевания. Псевдотуберкулезом в 2024 г. переболело 375 человек (в 2023 г. – 318 человек) в 35 субъектах Российской Федерации [1]. Эти данные говорят о том, что для лабораторной службы задача систематического мониторинга псевдотуберкулеза остается актуальной. Одним из этапов изучения выделенных штаммов возбудителя псевдотуберкулеза (*Yersinia pseudotuberculosis*) является их генотипирование и определение генетического разнообразия штаммов, выделенных на той или иной территории. Одним из возможных методов генотипирования, редко используемым в настоящее время, является SNP-анализ (single nucleotide polymorphism – полиморфизм единичного нуклеотида). В работе Zhgenti et al. проведен анализ 12 штаммов возбудителя псевдотуберкулеза, выделенных в Грузии, с помощью 10 340 SNP [2]. Анализ SNP позволил авторам разделить штаммы на 3 кластера с незначительной корреляцией по географическим регионам. Внутри группы штаммы отличались друг от друга максимум на один SNP. Еще одна работа по SNP-типированию была проведена с целью выявления генетических связей клинических и природных штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных во Франции [3]. В анализе использовали штаммы, выделенные из различных мест в различное время, в т.ч. и штаммы первой эпидемической вспышки во Франции 2020 г. Авторы проводили сравнение данных, полученных при анализе геномов методами cgMLST и cgSNP, и установили, что оба метода имеют высокий дискриминационный потенциал и могут использоваться для оценки генетического разнообразия исследуемых штаммов возбудителя псевдотуберкулеза. Причем анализ результатов двух методов показал, что они по-разному дифференцируют штаммы из одной вспышки, что, по нашему мнению, свидетельствует о необходимости использования различных методов одновременно. Нами ранее проводилась внутривидовая генетическая дифференциация российских штаммов возбудителя псевдотуберкулеза, выделенных из клинического материала и из внешней среды с помощью методов INDEL-типирования [4] и MLST [5]. Всего было проанализировано >300 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в различных странах, и показано, что все исследованные штаммы с помощью INDEL-типирования разделяются на 30 генетических групп. Среди российских обнаружены 1, 2, 3, 4, 5, 9-й INDEL-типы штаммов *Y. pseudotuberculosis*. Анализ генотипов, полученных при MLST, показал, что в России циркулируют штаммы 2, 9, 19, 26, 32, 42, 43-го ST-типов, из них штаммы ST-типов 26 и 32 встречаются только на территории России. Несмотря на редкое использование SNP в качестве маркеров генотипирования, высокую дискриминационную способность такого подхода и возможность его применения в исследованиях отрицать невозможно. Целью настоящей работы стало генотипирование штам-

мов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в России и за рубежом, с помощью SNP-анализа.

Материалы и методы

В работе использованы данные полногеномного секвенирования 62 штаммов *Y. pseudotuberculosis*, полученные на платформе MiSeq Illumina во ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора, а также в Санкт-Петербургском институте эпидемиологии и микробиологии им. Пастера и ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора. Кроме того, в анализ включены последовательности возбудителя псевдотуберкулеза, доступные в базе данных NCBI. Для исследования были отобраны геномы возбудителя псевдотуберкулеза, данные о которых содержали информацию о месте выделения. Нуклеотидные последовательности штаммов, выделенных из внешней среды, от животных и из клинического материала из различных регионов нашей страны, были получены после полногеномного секвенирования. Таким образом, в исследование вошли последовательности 146 штаммов *Y. pseudotuberculosis*.

Для поиска SNP на языках программирования Java и Microsoft Visual Basic for Application было разработано авторское программное обеспечение. Филогенетический анализ проводили с помощью алгоритма по построению минимального остовного дерева (Minimum Spanning Tree/MST) с использованием модуля `minimum_spanning_tree` из пакета `scipy` [6]. Разбиение на кластеры проводили с помощью модуля `connected_components` из пакета `scipy` [6]. С целью визуализации дендрограммы использовали пакет `Graphviz` [7]. Для визуальной обводки кластеров использовали модуль `ConvexHull` из пакета `scipy` [6]. В целях визуализации распределения штаммов по геногруппам в зависимости от места выделения по кластерам использовали диаграмму Санкея.

Результаты исследования

С целью проведения анализа нами было разработано программное обеспечение, выявляющее SNP в полногеномных последовательностях штаммов *Y. pseudotuberculosis*. В ходе исследования было выявлено 26 009 SNP. Последовательности с минимальными отличиями объединялись в один кластер. По итогам генотипирования 146 последовательностей были разделены на 14 SNP-кластеров. Также были штаммы, которые не образовали отдельных кластеров. Однако чаще всего такие единичные штаммы располагались в области тех кластеров, с которыми были выделены в одной географической зоне (рис. 1).

Часть российских изолятов попала в кластеры, где преимущественно представлены штаммы из европейских стран. Кластеры №№ 3, 5 и 7 имели в своем составе по одному российскому штамму (рис. 2). Штамм 715 из кластера №7 был выделен в Великом Новгороде и находился в одном кластере с изолятами из Германии, Франции и Финляндии. Штаммы данного кластера имели одинаковый серотип O:1a, но были выделены в различных географических зонах. Возможно, произошел занос возбудителя псевдотуберкулеза из европейских стран. Изолят 360, выделенный в Санкт-

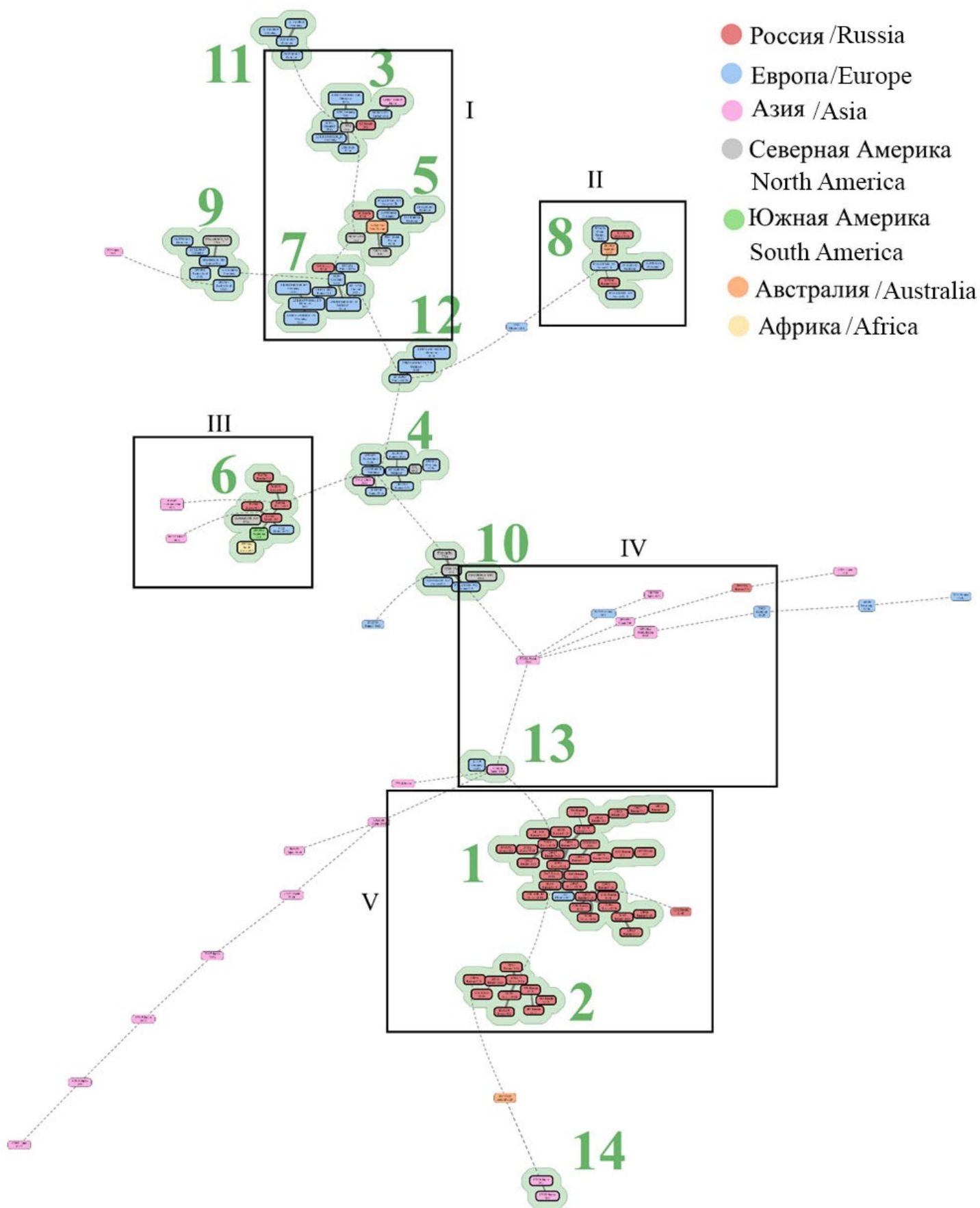


Рис. 1. Минимальное остовное дерево, построенное на основе wgSNP. Арабскими цифрами обозначены номера кластеров, римскими – области дерева, содержащие российские изоляты.
 Fig. 1. Minimum spanning tree constructed using wgSNP. Arabic numerals indicate cluster numbers. Roman numerals indicate tree regions containing Russian isolates.

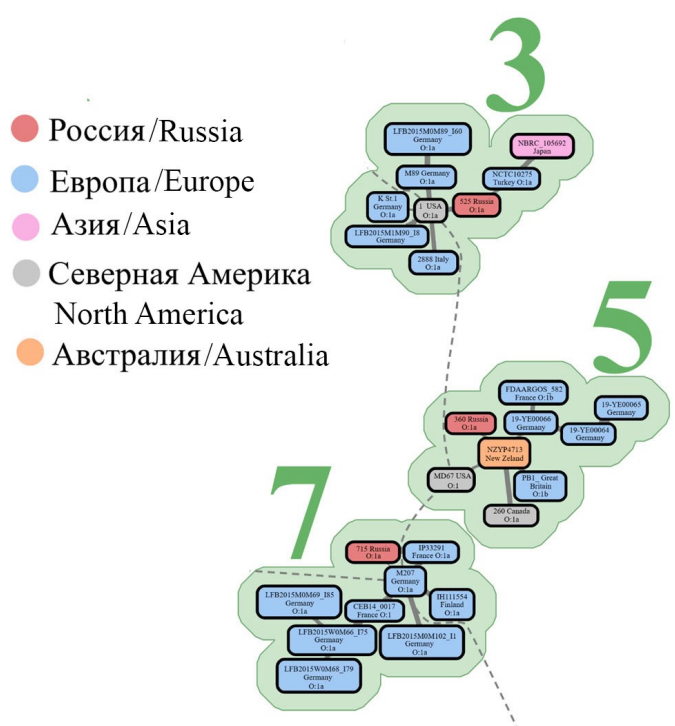


Рис. 2. Состав штаммов в кластерах №№ 3, 5, 7.
 Fig. 2. Strains in clusters No 3, 5, 7.

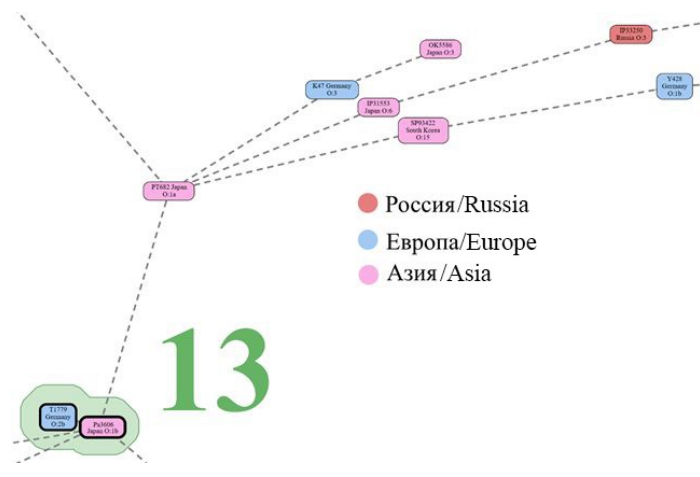


Рис. 5. Штаммы кластера №13 и ряд единичных штаммов.
 Fig. 5. Strains of cluster No 13 and a number of individual strains.

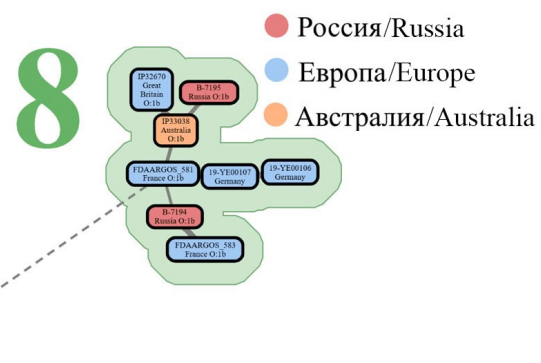


Рис. 3. Штаммы в кластере №8.
 Fig. 3. Strains in cluster No 8.

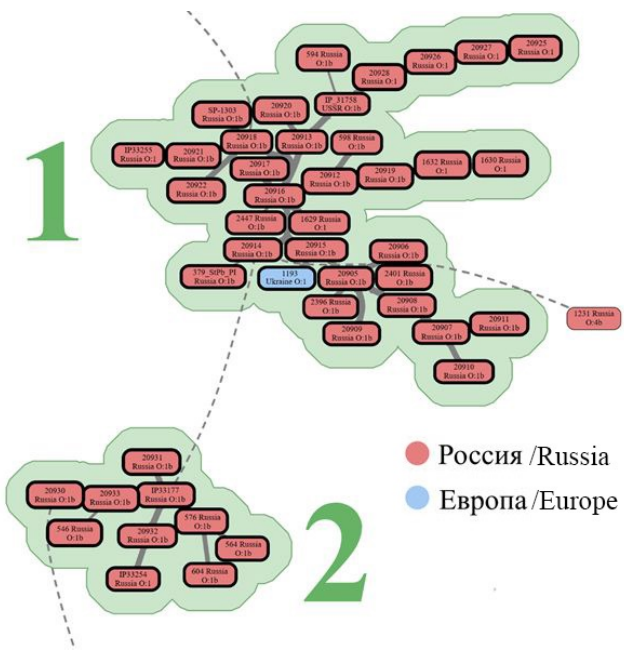


Рис. 6. Состав штаммов в кластерах №1 и №2.
 Fig. 6. Strains in clusters No 1 and 2.

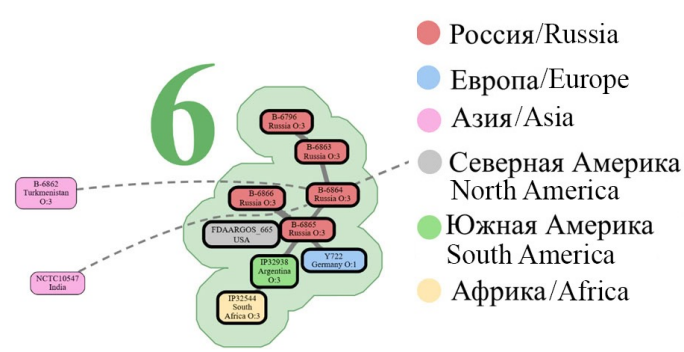


Рис. 4. Штаммы кластера №6.
 Fig. 4. Strains of cluster No 6.

Петербурге, находился в кластере №5, в который входили штаммы из Германии, а также по одному штамму из Франции, Великобритании, Новой Зеландии и Канады. Штаммы из Франции и Великобритании, RB1+ 1 и

FDAARGOS_582, относились к серотипу O:1b, тогда как российский и канадский штаммы – к O:1a. В кластере №3 помимо российского штамма 525 присутствовали изоляты из Германии, Италии, Турции и Японии. Как в случае с кластером №7 в №3, практически все штаммы имели один серотип – O:1a.

Как уже отмечалось, в кластерах №№ 3, 5 и 7 возбудитель псевдотуберкулеза выделен в географических зонах различных континентов. Мы предполагаем, что такое распределение можно объяснить заносом возбудителя. Так, например, в кластере №3 можно предположить занос возбудителя псевдотуберкулеза из США в европейские страны, станцию Зима в России и Японию. Говоря о кластере №5, нельзя не обратить внимания на присутствие штаммов из Новой Зеландии и Канады. Мы предполагаем, что в Канаду, Новую Зеландию и Россию были занесены клоны возбудителя псевдотуберкулеза, поскольку все-таки большинство изолятов этого кластера были обнаружены в европейских странах. Штаммы кластера №7 имели один серотип, что позво-

ляет предполагать занос возбудителя псевдотуберкулеза в Россию из европейских стран. Кластеры №3, 5 и 7 были обозначены нами как «европейские», по причине нахождения в них штаммов, выделенных преимущественно в европейских странах.

Кластер №8 помимо штаммов из Европы и Австралии содержит 2 штамма из России (В-7194 и В-7195) (рис. 3). Все штаммы кластера №8 относились к серотипу O:1b. На минимальном остоном дереве между кластерами №8 и №12 расположен единичный штамм 1212, который был выделен на территории Хмельницкой области, Украина. Это позволяет нам предполагать, что данный штамм филогенетически ближе к европейским.

Кластер №6 включал штаммы, выделенные в США, Южной Африке, Германии и Аргентине, а также 5 штаммов из России (рис. 4). Российские штаммы В-6796, В-6863, В-6864, В-6865, В-6866 были выделены на территориях Ставропольского края и Ленинградской области. Эти штаммы относились к серотипу O:3, как и остальные штаммы данного кластера. Кластер №6 был обозначен нами «межконтинентальным», так как штаммы входящие в него были изолированы на различных континентах.

В кластер №13 вошли всего два штамма (рис. 5). Штамм IP33250 из России не вошел в кластер. Однако стоит отметить, что он относился к серогруппе O:3, как и штаммы OK5586, 17850, которые были изолированы в Японии и Германии соответственно. Что касается российского штамма, который не вошел в кластер №13, то нет точных данных, в какой части России он был изолирован. Также можно отметить, что большинство единичных штаммов в области вокруг кластера №13 выделены в азиатских странах. Исходя из этого, он был обозначен нами как «азиатский».

Также были сформированы кластеры, содержащие преимущественно российские штаммы, поэтому кластеры №1 и №2 были обозначены нами как «российские» (рис. 6). Российские штаммы, составляющие данные кластеры, были выделены во время вспышек в различных городах России: Владивосток, Зима, Томск, Красноярск, Санкт-Петербург, Новый Уренгой. Также в кластере №1 присутствует штамм 1193 из Украины, выделенный в Хмельницкой области. Примечательно, что штаммы, выделенные на Украине, при использовании INDEL-типирования и MLST разделялись по такому же принципу [4, 5]. Штамм 1193 группировался вместе с российскими штаммами, а штамм 1212 – с европейскими. Вероятно, изолят 1212 был занесен на Украину из европейских стран, тогда как изолят 1193 является штаммом «азиатского» типа и попал в Хмельницкую область из России. Также обращает на себя внимание то, что изолят 1231 не вошел в кластер, однако тоже выделен в России. Возможно, это связано с тем, что все штаммы кластера №1 относятся к серотипу O:1b, тогда как штамм 1231 – к O:4b.

Близкие по генотипу российские штаммы также были объединены в кластер №2. В него вошли штаммы, выделенные преимущественно на станции Зима, и имели серотип O:1b (рис. 6).

Таким образом, можно говорить об определенной тенденции по объединению штаммов в один кластер в зависимости от географии их выделения. Выявлено, что кластеры №1 и №2 содержат только штаммы из России, поэтому были обо-

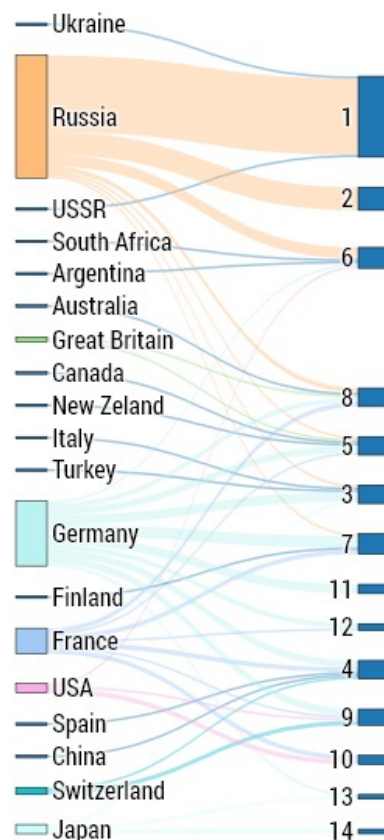


Рис. 7. Схема распределения, выделенных штаммов *Y. pseudotuberculosis* в различных странах по кластерам, построенная с помощью диаграммы Санкея.

Fig. 7. Distribution diagram of isolated *Y. pseudotuberculosis* strains in different countries by clusters, constructed using the Sankey diagram.

значены нами как «российские». Ближе всего к «российским» кластерам расположен «азиатский» кластер №13. Следует отметить, что изоляты в составе кластеров №1 и №2 были выделены в Сибири и на Дальнем Востоке. Также стоит обратить внимание на кластер №14, который представлен двумя штаммами, выделенными в Японии. Расположение «российских» кластеров относительно №13 и №14 говорит о том, что они имеют тесную связь с «азиатскими». Таким образом, можно сказать, что «российские» кластеры являются частью «азиатских». «Европейские» кластеры – №№ 3, 5, 7, 8, 9, 11, 12. В них, помимо европейских и российских штаммов, присутствуют изоляты, выделенные на других континентах. Следует отметить, что российские штаммы, входящие в «европейские» кластеры, преимущественно были изолированы в европейской части России. Также стоит выделить «межконтинентальные» кластеры №№ 4, 6 и 10. На минимальном остоном дереве они занимают промежуточное положение. Примечательно, что разделение штаммов псевдотуберкулеза примерно по такому же принципу было получено в работах по генотипированию с применением маркеров в CRISPR-CAS-системах [8, 9].

При анализе всех SNP в последовательностях можно проследить, что российские штаммы попадают в основном в кластеры №№ 1, 2, 6, причем преимущественно они принадлежат к серотипу O:1b (рис. 7).

Кроме того, можно проследить корреляцию между генотипами и серотипами штаммов. В кластерах №1 и №2 все штаммы принадлежат к серотипу O:1b, в кластерах №5 и №6 – к серотипу O:1a, а в кластере №4 – к серотипу O:3. В ряде «европейских» и «российских» кластеров штаммы часто группировались по принципу принадлежности к одному серотипу, хотя и встречались кластеры, где штаммы принадлежат к разным серотипам, как, например, №7 и №9.

Можно констатировать, что в природных очагах псевдотуберкулеза на территории России выделяются штаммы трех типов: «азиатские», «европейские» и «межконтинентальные», имеющие в большинстве случаев характерные для них серотипы. Вместе с тем ряд штаммов из России были обнаружены в «европейских» и «межконтинентальных» кластерах, что может говорить о заносе штаммов из Европы на территорию России. Штаммы из России в кластере №4, могут считаться штаммами «межконтинентальными». Российские изоляты, которые были распределены при генотипировании с помощью wgSNP в кластеры №№ 3, 5–8, принадлежат к штаммам «европейского» типа и имеют большее генетическое разнообразие, судя по широкому представительству в различных кластерах, хотя в количественном отношении их выделяется значительно меньше на территории России.

Заключение

Таким образом, SNP-анализ данных полногеномного секвенирования штаммов *Y. pseudotuberculosis*, выделенных в России и за рубежом, показал возможность с его помощью подробно изучать генетическое разнообразие популяций, связанных с географическим расположением очагов инфекции. Филогенетическое исследование с помощью wgSNP-маркеров позволяет эффективно, с большим дискриминирующим потенциалом, выявлять родственные генетические связи штаммов, выделенных на различных территориях.

Информация о финансировании

Полногеномное секвенирование проведено в рамках федеральной программы «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)».

Financial support

Whole-genome sequencing was carried out within the framework of the federal program “Sanitary shield – health safety (prevention, detection, response)”.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

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. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения Российской Федерации в 2024 году» [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=30171 (дата обращения: 15.08.2025).
2. Zhgenti E, Hu P, Chanturia G, Tsereteli D, Kekelidze M, Chubinidze S, et al. Investigation of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* strains from Georgia and neighboring countries in the Caucasus by high-density SNP microarray. Arch Microbiol. 2018 Nov;200(9):1345-1355. DOI: 10.1007/s00203-018-1545-8
3. Savin C, Le Guern AS, Chereau F, Guglielmini J, Heuzé G, Demeure C, et al. First Description of a *Yersinia pseudotuberculosis* Clonal Outbreak in France, Confirmed Using a New Core Genome Multilocus Sequence Typing Method. Microbiol Spectr. 2022 Aug 31;10(4):e0114522. DOI: 10.1128/spectrum.01145-22
4. Трухачев АЛ, Мелоян МГ, Воскресенская ЕА, Водопьянов АС, Водопьянов СО, Подладчиков ОН, и др. INDEL-типирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022;4:102-109. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109
5. Мелоян МГ, Водопьянов АС, Воскресенская ЕА, Писанов РВ, Чеснокова МВ, Климов ВТ, и др. Генотипирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных на территории России, с помощью MLST. Проблемы особо опасных инфекций. 2024;4:107-114. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-107-114
6. Virtanen P, Gommers R, Oliphant TE, Haberland M, Reddy T, Cournapeau D, et al. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. Nat Methods. 2020 Mar;17(3):261-272. DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2
7. Ellson J, Gansner E, Koutsofios L, North SC, Woodhull G. Graphviz – Open Source Graph Drawing Tools. In: Mutzel P, Jünger M, Leipert S (eds). Graph Drawing. GD 2001. Lecture Notes in Computer Science. 2002;2265. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/3-540-45848-4_57
8. Seecharran T, Kalin-Manttari L, Koskela K, Nikkari S, Dickins B, Corander J, et al. Phylogeographic separation and formation of sexually discrete lineages in a global population of *Yersinia pseudotuberculosis*. Microb Genom. 2017 Sep 18;3(10):e000133. DOI: 10.1099/mgen.0.000133
9. Chen G, Lyu Y, Wang D, Zhu L, Cao S, Pan C, et al. Obtaining Specific Sequence Tags for *Yersinia pestis* and Visually Detecting Them Using the CRISPR-Cas12a System. Pathogens. 2021 May 6;10(5):562. DOI: 10.3390/pathogens10050562

References

1. State report "On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population of the Russian Federation in 2024" [Electronic resource]. Available at: https://rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=30171 (accessed 15.08.2025). (In Russian).
2. Zhgenti E, Hu P, Chanturia G, Tsereteli D, Kekelidze M, Chubinidze S, et al. Investigation of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* strains from

- Georgia and neighboring countries in the Caucasus by high-density SNP microarray. *Arch Microbiol.* 2018 Nov;200(9):1345-1355. DOI: 10.1007/s00203-018-1545-8
3. Savin C, Le Guern AS, Chereau F, Guglielmini J, Heuzé G, Demeure C, et al. First Description of a *Yersinia pseudotuberculosis* Clonal Outbreak in France, Confirmed Using a New Core Genome Multilocus Sequence Typing Method. *Microbiol Spectr.* 2022 Aug 31;10(4):e0114522. DOI: 10.1128/spectrum.01145-22
4. Trukhachev AL, Meloyan MG, Voskresenskaya EA, Vodop'yanov AS, Vodop'yanov SO, Podladchikova ON, et al. INDEL-Typing of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2022;4:102-109. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109 (In Russian).
5. Meloyan MG, Vodop'yanov AS, Voskresenskaya EA, Pisanov RV, Chesnokova MV, Klimov VT, et al. Genotyping of *Yersinia pseudotuberculosis* Strains Isolated in Russia Using MLST. *Problems of Particularly Dangerous Infections.* 2024;4:107-114. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-4-107-114 (In Russian).
6. Virtanen P, Gommers R, Oliphant TE, Haberland M, Reddy T, Cournapeau D, et al. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nat Methods.* 2020 Mar;17(3):261-272. DOI: 10.1038/s41592-019-0686-2
7. Ellson J, Gansner E, Koutsofios L, North SC, Woodhull G. Graphviz – Open Source Graph Drawing Tools. In: Mutzel P, Jünger M, Leipert S (eds). *Graph Drawing.* GD 2001. *Lecture Notes in Computer Science.* 2002;2265. Springer, Berlin, Heidelberg. DOI: 10.1007/3-540-45848-4_57
8. Secharran T, Kalin-Manttari L, Koskela K, Nikkari S, Dickins B, Corander J, et al. Phylogeographic separation and formation of sexually discrete lineages in a global population of *Yersinia pseudotuberculosis*. *Microb Genom.* 2017 Sep 18;3(10):e000133. DOI: 10.1099/mgen.0.000133
9. Chen G, Lyu Y, Wang D, Zhu L, Cao S, Pan C, et al. Obtaining Specific Sequence Tags for *Yersinia pestis* and Visually Detecting Them Using the CRISPR-Cas12a System. *Pathogens.* 2021 May 6;10(5):562. DOI: 10.3390/pathogens10050562

Информация о соавторах:

Водопьянов Алексей Сергеевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумной институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-9056-3231

Воскресенская Екатерина Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник ФБУН «Санкт-Петербургский институт эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
ORCID: 0000-0001-6380-1153

Трухачёв Алексей Леонидович, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумной институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-3531-1146

Information about co-authors:

Alexey S. Vodopyanov, PhD, MD, Leading researcher at the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-9056-3231

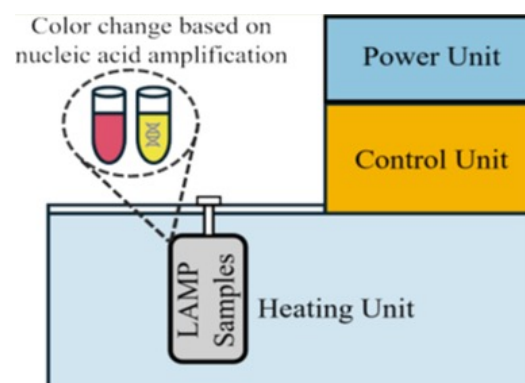
Ekatserina A. Voskresenskaya, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher at the Pasteur St. Petersburg Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology
ORCID: 0000-0001-6380-1153

Alexey L. Trukhachev, PhD, MD, Leading Researcher at the Laboratory of Molecular Biology of Natural Focal and Zoonotic Infections of the Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-3531-1146

НОВОСТИ НАУКИ

Переносной прибор обеспечивает быстрое обнаружение патогенов в полевых условиях

Тестирование на основе нуклеиновых кислот стало ведущим методом быстрого обнаружения микробов. В отличие от полимеразной цепной реакции (ПЦР), циклическое усиление нуклеиновой кислоты при изотермических условиях (LAMP) – это простой метод усиления нуклеиновой кислоты, где реакцию можно проводить при постоянной температуре, а результаты получать в колориметрическом формате. Прозрачная водяная баня является желательным инструментом для проведения нагревания и наблюдения визуальных результатов. Однако существующие методы нагрева воды неудобны для загрузки и выгрузки образцов для тестирования. В этой работе мы разработали переносную водяную баню – изотермический нагреватель, сокращенно IsoHeat, предназначенный для выполнения реакций LAMP. Используя технологии 3D-печати и лазерной резки, мы изготовили различные детали и механически собрали устройство. Пользователи могут начать нагрев, нажав кнопку «Старт» на экране после ввода целевой температуры. Затем устройство нагревает воду и поддерживает целевую температуру с помощью системы управления на основе алгоритма PID. Мы демонстрируем, что IsoHeat может работать при температурах окружающей среды от 5 до 33°C, и он может проводить реакции LAMP как в жидкой форме, так и в устройствах на бумажной основе. IsoHeat более эффективен и удобен в использовании, чем коммерчески доступное погружное нагревательное устройство, которое часто используется для проведения реакций LAMP. Этот вновь разработанный прибор будет полезен для удобного обнаружения патогенов на месте (например, в точке оказания медицинской помощи для человека, на фермах для применения к растениям и животным, и на производственных предприятиях для обеспечения безопасности пищевых продуктов).



Затем устройство нагревает воду и поддерживает целевую температуру с помощью системы управления на основе алгоритма PID. Мы демонстрируем, что IsoHeat может работать при температурах окружающей среды от 5 до 33°C, и он может проводить реакции LAMP как в жидкой форме, так и в устройствах на бумажной основе. IsoHeat более эффективен и удобен в использовании, чем коммерчески доступное погружное нагревательное устройство, которое часто используется для проведения реакций LAMP. Этот вновь разработанный прибор будет полезен для удобного обнаружения патогенов на месте (например, в точке оказания медицинской помощи для человека, на фермах для применения к растениям и животным, и на производственных предприятиях для обеспечения безопасности пищевых продуктов).

Rafiq N, Verma MS.

Design and Development of a Field-Deployable Water Bath for Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay. In IEEE Sensors Journal. 2025;25(17):32051-32060. DOI: 10.1109/JSEN.2025.3588790

Молекулярно-генетическая характеристика *Listeria monocytogenes* сиквенс-типа ST9 как наиболее часто ассоциированного с контаминацией пищевых продуктов

Е.А.Алексеева^{1,2}, В.Н.Борзенков², И.П.Мицевич², Т.Н.Мухина², М.Р.Барькова², Г.Н.Федюкина², А.И.Козлов², М.В.Храмов², О.А.Кузнецова³, Ю.К.Юшина³, М.А.Грудистова³, Н.К.Фурсова²

¹ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области» Роспотребнадзора, Вологда, Российская Федерация;

²ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболensk, Российская Федерация;

³ФГБУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М.Горбатова» РАН, Москва, Российская Федерация

Listeria monocytogenes – важный патоген, передающийся через пищу, который способен адаптироваться и выживать в продуктах питания и на предприятиях пищевой промышленности, где он может сохраняться в течение многих лет. Быстрая идентификация патогенных микроорганизмов на пищевых производствах имеет решающее значение для разработки эффективных профилактических и/или корректирующих мер для обеспечения безопасности пищевых продуктов. В данном исследовании охарактеризованы 305 изолятов *L. monocytogenes*, выделенных из пищевых продуктов в разных субъектах Российской Федерации, среди которых наиболее распространенным (21%) сиквенс-типом (ST) был ST9, с преимущественной принадлежностью к ПЦР-серогруппам IIa и IIc. Несмотря на принадлежность ST9 к гиповирулентной генетической линии II, данный генотип *L. monocytogenes* может представлять потенциальную угрозу здоровью населения из-за ассоциированности с мясными продуктами и средой пищевой промышленности в Российской Федерации. В данной работе представлены результаты молекулярно-генетической характеристики штаммов *L. monocytogenes* ST9 на основании полногеномного секвенирования.

Ключевые слова: *Listeria monocytogenes*, ST9, пищевое производство, генотипирование, полногеномное секвенирование, гены антибиотикорезистентности, гены вирулентности, острова стрессоустойчивости

Для цитирования: Алексеева Е.А., Борзенков В.Н., Мицевич И.П., Мухина Т.Н., Барькова М.Р., Федюкина Г.Н., Козлов А.И., Храмов М.В., Кузнецова О.А., Юшина Ю.К., Грудистова М.А., Фурсова Н.К. Молекулярно-генетическая характеристика *Listeria monocytogenes* сиквенс-типа ST9 как наиболее часто ассоциированного с контаминацией пищевых продуктов. Бактериология. 2026; 11(1): 92–102. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-92-102

Molecular genetic characterization of *Listeria monocytogenes* sequence type ST9 as the most frequently associated with food contamination

Е.А.Alekseeva^{1,2}, V.N.Borzenkov², I.P.Mitsevich², T.N.Mukhina², M.R.Barkova², G.N.Fedyukina², A.I.Kozlov², M.V.Khramov², O.A.Kuznetsova³, Yu.K.Yushina³, M.A.Grudistova³, N.K.Fursova²

¹Center for Hygiene and Epidemiology in the Vologda Region of Rosпотребнадзор, Vologda, Russian Federation;

²State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор, Obolensk, Russian Federation;

³V.M.Gorbatov Federal Scientific Center of Food Systems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

Для корреспонденции:

Алексеева Елена Андреевна, кандидат медицинских наук, заведующая отделом лабораторных исследований ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Вологодской области» Роспотребнадзора; ведущий научный сотрудник отдела информационных технологий ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболensk, Территория «Квартал А», 24
ORCID: 0000-0002-1860-0026

Статья поступила 10.02.2026, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Elena A. Alekseeva, PhD, MD, Head of the Laboratory Research Department of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Vologda Region of Rosпотребнадзор; Leading Researcher of the Information Technology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rosпотребнадзор

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow region, 142279, Russian Federation
ORCID: 0000-0002-1860-0026

The article was received 10.02.2026, accepted for publication 30.03.2026

Listeria monocytogenes is an important foodborne pathogen that can adapt and survive in food and food processing facilities, where it can persist for many years. Rapid identification of pathogenic microorganisms in food production facilities is critical for the development of effective preventive and/or corrective measures to ensure food safety. In this study, 305 *L. monocytogenes* isolates obtained from different regions of the Russian Federation were characterized. Among them, the most common (21%) sequence type (ST) was ST9, with predominant belonging to PCR serogroups IIa and IIc. Despite the fact that ST9 belongs to the hypovirulent genetic lineage II, this genotype of *L. monocytogenes* may pose a potential threat to public health due to its association with meat products and the food industry environment in the Russian Federation. This study presents the results of molecular genetic characterization of *L. monocytogenes* ST9 strains based on whole genome sequencing.

Key words: *Listeria monocytogenes*, ST9, food production, genotyping, whole genome sequencing, antimicrobial resistance genes, virulence genes, stress survival islets

For citation: Alekseeva E.A., Borzenkov V.N., Mitsevich I.P., Mukhina T.N., Barkova M.R., Fedyukina G.N., Kozlov A.I., Khramov M.V., Kuznetsova O.A., Yushina Yu.K., Grudistova M.A., Fursova N.K. Molecular genetic characterization of *Listeria monocytogenes* sequence type ST9 as the most frequently associated with food contamination. *Bacteriology*. 2026; 11(1):92–102. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-92-102

Интерес к изучению распространения бактерий *Listeria monocytogenes* вызван многочисленными эпидемическими вспышками листериоза в развитых странах (Франция, США, Германия, Испания и др.), а также ростом в последние годы спорадической заболеваемости на территории Российской Федерации (РФ) [1, 2]. *L. monocytogenes* – важный патоген пищевой инфекции, который способен адаптироваться и выживать в продуктах питания и на предприятиях пищевой промышленности, где он может сохраняться в течение многих лет. Он по-прежнему представляет серьезную угрозу для общественного здравоохранения из-за своей сложной экологии и способности выживать в различных суровых условиях окружающей среды, создаваемых при переработке продуктов питания [3].

На предприятия пищевой промышленности листерии могут поступать различными путями, в т.ч. с основным сырьем (молоко, мясо, птица, рыба и др.), вспомогательным сырьем (специи, овощи, фрукты и др.), оборотной тарой и упаковкой и т.д. Источником вторичной контаминации полуфабрикатов, готовой продукции, технологических поверхностей листериями могут быть зараженное сырье, вспомогательные материалы, упаковка [4].

Адаптация и выживание *L. monocytogenes* на предприятиях пищевой промышленности происходят в основном благодаря их способности размножаться при низкой температуре, низком pH и в условиях осмотического стресса, а также благодаря их способности к образованию биопленок и устойчивости к дезинфицирующим средствам [3]. В ходе технологического процесса производства мясной, рыбной и птицепродукции создаются специфические условия, особенно при посоле и холодном копчении (присутствие копильных жидкостей, дыма, высоких концентраций соли), которые способствуют торможению роста большинства микроорганизмов, но листерии при этом беспрепятственно размножаются [5, 6].

Распространение листерий за пределами пищевых предприятий может быть связано с продуктами или блюдами, готовыми к употреблению (ready-to-eat/RTE), которые наиболее часто являются источником передачи *L. monocytogenes* [3].

Во многих промышленно развитых странах эпиднадзор и расследование вспышек листериоза, определение источников и путей распространения инфекции осуществляются с использованием молекулярно-генетических методов, в т.ч. посредством полногеномного секвенирования (WGS) штаммов *L. monocytogenes* [7, 8]. С помощью WGS было проде-

монстрировано наличие путей перекрестного заражения *L. monocytogenes* между мясокомбинатами, а также распространение патогена внутри одного завода, в т.ч. между разными резервуарами в одном помещении [9]. Использование WGS облегчает расследование вспышек заболеваний пищевого происхождения, выявление источников географического распространения *L. monocytogenes* различных клональных комплексов. Рутинный эпидемиологический надзор за листериозом позволяет осуществить прогноз риска на основании генетических особенностей возбудителя – уровня вирулентности, стрессоустойчивости, чувствительности к антимикробным препаратам, что важно для управления безопасностью пищевых продуктов и, в целом, общественного здравоохранения [10]. Методы WGS используют комбинацию мультилокусного секвенирования корового генома (cgMLST, охватывает 1748 генов) и методов анализа однонуклеотидных вариантов (SNP) [11].

Показано, что разные генетические линии *L. monocytogenes* характеризуются разными наборами факторов вирулентности. Гипервирулентные штаммы содержат полный набор генетических детерминант, обеспечивающих цикл инфекции, включающий в себя адгезию и инвазию (*inlABCC2DEFGHIJKLP*), лизис вакуоли и выход патогена из нее (*hly*, *plcAB*), размножение листерий в цитоплазме эукариотической клетки (*cwhA*, *opp*, *purO*), полимеризацию актиновых хвостов (*actA*), модуляцию иммунных реакций макроорганизма (*IntA*), селективное подавление конкурирующих бактерий (*IIsA*) и др. [12].

В последние годы отмечается рост устойчивости *L. monocytogenes* к антимикробным препаратам, обусловленный молекулярными механизмами как природной, так и приобретенной антибиотикорезистентности. Результаты исследований показали, что профили антибиотикорезистентности ассоциированы с определенными типами пищевых продуктов. Специфические условия обработки в пищевой цепи (термическая обработка, холодовая цепь, консерванты и т.д.) и типы пищевых продуктов (низкий pH, пониженная активность воды и т.д.) могут влиять на эволюцию антибиотикорезистентных популяций патогена (формирование перекрестной резистентности, горизонтальный перенос генов и т.д.). Например, локус *fosX*, определяющий природную устойчивость *L. monocytogenes* к фосфомицину, выявлен повсеместно, в то время как приобретенные детерминанты резистентности к линкомицину (*lin*), норфлоксацину (*norB*) и тетрациклину (*tetM*) были распределены вариативно [13].

Показано, что большая часть изолятов *L. monocytogenes* несут 1 (~64%) или 2 (~3%) плазмиды размером от 4 до 110 Kb. В базе данных PlasmidFinder идентифицированы 5 типов репликонов плазмид *L. monocytogenes* (rep25_1, rep25_2, rep26_2, rep26_4 и rep32_1), причем плаزمида может содержать более одного типа репликона [14].

Одной из часто выделяемых из пищевых продуктов во многих странах мира генетической линией *L. monocytogenes* (20–33% изолятов) является сиквенс-тип ST9, входящий в клональный комплекс CC9 гиповирулентной генетической линии II [9, 15, 16]. Наиболее часто ST9 ассоциирован с контаминацией мясных продуктов и среды их переработки – на скотобойнях и в последующих звеньях цепочки переработки мяса (60–70% изолятов). Этот сиквенс-тип редко встречается в других продуктах питания, таких как фрукты, сырое молоко, и в среде их переработки, еще реже выделяется от людей [14]. Эти наблюдения указывают на то, что изоляты ST9 хорошо адаптированы к выживанию именно в условиях производства мяса и обладают конкурентными преимуществами перед изолятами других генотипов, что было подтверждено в экспериментах *in vitro* по совместному культивированию в питательной среде на основе мяса [17].

Внутри ST9 показано наличие генетического разнообразия, выявляемого с помощью sgMLST, что позволяет определять взаимосвязи между штаммами этого сиквенс-типа как в международном контексте, так и на местном уровне – между пищевыми производствами и внутри них [9]. Например, в норвежском исследовании 2020 г. были описаны выделенные на нескольких мясоперерабатывающих предприятиях изоляты *L. monocytogenes* ST9 с незначительными генетическими различиями, которые образовали на филогенетическом дереве 5 отдельных подкластеров, и для четырех из этих кластеров близкородственные изоляты были обнаружены в течение нескольких (от 4 до 9) лет на одном и том же мясоперерабатывающем предприятии. Этот факт указывает на возможность сосуществования двух эволюционных сценариев – накопления генетического разнообразия в ходе персистенции штаммов или достаточно регулярного поступления патогена из внешнего источника, в котором штамм является персистентным [10].

Целью данной работы было исследование популяционной структуры и генетических особенностей 65 изолятов *L. monocytogenes* ST9, выделенных из различных источников в субъектах РФ в 2014–2025 гг.

Материалы и методы

Штаммы *L. monocytogenes*

Штаммы *L. monocytogenes*, выделенные из пищевых продуктов ($n = 305$) в 19 субъектах РФ: Вологодской ($n = 189$), Московской ($n = 43$), Воронежской ($n = 16$), Сахалинской ($n = 9$), Ярославской ($n = 7$), Новгородской ($n = 6$), Калужской ($n = 3$), Тверской ($n = 3$), Самарской ($n = 2$), Саратовской ($n = 2$), Астраханской ($n = 1$), Владимирской ($n = 1$), Липецкой ($n = 1$), Орловской ($n = 1$), Новосибирской ($n = 1$) и Ростовской ($n = 1$) областях, Удмуртии ($n = 15$), Татарстане ($n = 1$) и Камчатском крае ($n = 3$), собранные в рамках деятельности Референс-центра по мониторингу за листериозом

Роспотребнадзора при ФБУН ГНЦ ПМБ в период с 2014 по 2025 г., получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск» [18].

Выделение и культивирование *L. monocytogenes*

Выделение культур *L. monocytogenes* из образцов пищевых продуктов осуществляли с применением методов классической бактериологии. Для накопления листерий в образцах использовали селективный накопительный бульон «Бульон Фрейзера, основа» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия). В качестве дифференциально-диагностических применяли среды «*Listeria* agar (base) acc. OTTAVIANI and AGOSTI» (Merck, Герсхайм, Германия) и «ПАЛКАМ агар» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия). Накопление культур листерий и пересевы изолятов осуществляли на средах: «Мясопептонный агар» с 1% глюкозы (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), «Триптон-соевый агар, TSA» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), «Мясопептонный бульон, МПБ» с 1% глюкозы (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) [19].

Видовая идентификация бактерий

Видовую идентификацию листерий осуществляли с помощью биохимической тест-системы API *Listeria* (bioMérieux, Гренобль, Франция), ПЦР-тест-системы «АмплиСенс *Listeria monocytogenes*-EPh» (ЦНИИ эпидемиологии, Москва, Россия) согласно инструкциям производителей, а также на приборе MALDI-TOF Biotyper (Bruker Daltonics, Бремен, Германия).

Подтверждение видовой идентификации бактерий осуществляли с помощью экспериментальных ПЦР-тест-систем: «*Listeria* spp.», «*Listeria monocytogenes*», «*Listeria innocua*», «*Listeria ivanovii*», «*Listeria welshimeri*», «*Listeria seeligeri*» и «*Listeria grayi*» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия). В качестве ДНК-матрицы использовали термолизаты исследуемых культур. Визуализацию ПЦР-продуктов осуществляли с помощью электрофореза в 1,5%-м агарозном геле. В качестве референс-штаммов использовали штаммы *L. monocytogenes* ATCC13932, *L. innocua* ATCC33090, *L. ivanovii* ATCC19119, *L. welshimeri* B7382, *L. seeligeri* ATCC35967 и *L. grayi* ATCC25400, полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболенск».

Полногеномное секвенирование штаммов

L. monocytogenes

Геномную ДНК штаммов выделяли с помощью набора DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen, Хильден, Германия). Полногеномное секвенирование осуществляли на платформе GenoLab M с использованием набора SG GM Plus («Сесана», Москва, Россия). Полученные единичные прочтения собирали в контиги с помощью программы Unicycler 0.5.0 (<https://github.com/rwrick/Unicycler>). Оценку качества собранных контигов осуществляли с помощью алгоритма CheckM2 (<https://github.com/chklovski/CheckM2>).

Биоинформатический анализ

MLST-типирование штаммов *L. monocytogenes* осуществляли по схеме базы данных BIGSdb (Институт Пастера, Париж, Франция) с помощью алгоритма, основанного на анализе нуклеотидных последовательностей 7 генов

«домашнего хозяйства», кодирующих ABC-транспортер (*abcZ*), β-глюкозидазу (*bglA*), каталазу (*cat*), сукцинилдиаминопимелат десукцинилазу (*dapE*), аминотрансферазу D-аминокислоты (*dat*), L-лактатдегидрогеназу (*ldh*) и гистидинкиназу (*lhkA*) (https://bigsdbs.pasteur.fr/cgi-bin/bigsdbs/bigsdbs.pl?db=pubmlst_listeria_seqdef&page=sequenceQuery). Доступ 06.01.2026).

В геномах штаммов *L. monocytogenes* идентифицировали гены антибиотикорезистентности *fosX*, *lmo0441*, *lmo0919*, *norB* и *lmo0224*; гены островов патогенности LIPI-1 (*prfA*, *hly*, *plcA*, *plcB*, *mpl* и *actA*), LIPI-2 (*inlABCJ*), LIPI-3 (*lIsAXGHBYDP*), LIPI-4 (*licABC*, *lm900558-70013* и *glvA*), гены интерналинов (*inIEFGHIKP*), другие гены вирулентности (*oatA*, *ami*, *gtcA*, *vip*, *lisK*) и гены островов стрессоустойчивости SSI-1 (*lmo0444*, *lmo0445*, *lmo0446*, *lmo0447*, *lmo0448*) и SSI-2 (*lin0464* и *lin0465*) с помощью веб-ресурса базы данных BIGSdb-Lm (https://bigsdbs.pasteur.fr/cgi-bin/bigsdbs/bigsdbs.pl?db=pubmlst_listeria_seqdef&page=sequenceQuery). Доступ 06.01.2026).

Наличие плазмидных репликонов выявляли с помощью веб-ресурса PlasmidFinder 2.1, при идентичности ≥95% и покрытии ≥60% (Center for Genomic Epidemiology, <https://cge.food.dtu.dk/services/PlasmidFinder/>). Доступ 09.12.2026) [20, 21].

Филогенетический анализ проводили с помощью программ *Andi*, *FastME* и *GrapeTree* (<https://github.com/EvolBioInf/andi>, <https://gite.lirmm.fr/atgc/FastME/>, <https://github.com/>

achtmanlab/GrapeTree). Визуализацию филогенетического дерева осуществляли с помощью веб-ресурса *iTOL* (<https://itol.embl.de/>). Доступ 06.01.2026).

Размещение в базах данных

Фенотипы и генотипы штаммов *L. monocytogenes* представлены в Базе данных «Распространенность генетических линий *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах на территории Вологодской области» [22].

Собранные de novo геномы 45 штаммов *L. monocytogenes* сиквенс-типа ST9 аннотированы в базу данных GenBank (<https://github.com/ncbi/pgap>) с кодами доступа JBCIDQ01000000, JBCIDP01000000, JBCIDG01000000, JBCIDF01000000, JBCIDE01000000, JBCIDD01000000, JBCIDC01000000, JBCIDB01000000, JBCICZ01000000, JBCICM01000000, JBCICL01000000, JBCICK01000000, JBCICJ01000000, JBCICIO10000000, JBCIBW01000000, JBCIBT01000000, JBCIBA01000000, JBCIAV01000000, JBCIAU01000000, JBCIAT01000000, JBCIAM01000000, JBCIAJ01000000, JBCIAF01000000, JBCIAE01000000, JBCIAC01000000, JBCIAB01000000, JBCIAA01000000, JBCHZY01000000, JBCHZW01000000, JBCHZU01000000, JBCHZT01000000, JBCHZS01000000, JBCHZQ01000000, JBCHZO01000000, JBCHZL01000000, JBCHZK01000000, JBCHZH01000000, JBCHZG01000000, JBCHZD01000000, JBCHZC01000000, JBCHYY01000000, JBCHYN01000000,

Таблица 1. Изоляты *L. monocytogenes*, выделенные из пищевых продуктов в 19 субъектах Российской Федерации в 2013–2025 гг.
 Table 1. *L. monocytogenes* isolates collected from food products in 19 regions of the Russian Federation in 2013–2025.

Субъект РФ / Region	2013	2014	2016	2017	2018	2020	2021	2022	2023	2024	2025	Всего / Total
АСТ / AST											1	1
ВЛА / VLA						1						1
ВОЛ / VOL			2	11			12	40	37	81	6	189
ВОР / VOR										6	10	16
МОС / MOS	3	1				5					34	43
КАЛ / KAL		3										3
КАМ / KAM										3		3
ЛИП / LIP									1			1
НОВ / NPV		2								4		6
НОС / NOS											1	1
ОРЛ / ORL		1										1
РОС / ROS					1							1
САМ / SAM											2	2
САР / SAR								2				2
САХ / SAK						7				2		9
ТАТ / TAT										1		1
ТВЕ / TVE				2	1							3
УДМ / UDM									5	10		15
ЯРО / YAR				1					6			7
ИТОГО	3	7	2	14	2	13	12	42	49	107	54	305

АСТ – Астраханская обл., ВЛА – Владимирская обл., ВОЛ – Вологодская обл., ВОР – Воронежская обл., МОС – Московская обл., КАЛ – Калужская обл., КАМ – Камчатский край, ЛИП – Липецкая обл., НОВ – Новгородская обл., НОС – Новосибирская обл., ОРЛ – Орловская обл., РОС – Ростовская обл., САМ – Самарская обл., САР – Саратовская обл., САХ – Сахалинская обл., ТАТ – Татарстан, ТВЕ – Тверская обл., УДМ – Удмуртия, ЯРО – Ярославская обл.
 AST – Astrakhan region, VLA – Vladimir region, VOL – Vologda region, VOR – Voronezh region, MOS – Moscow region, KAL – Kaluga region, KAM – Kamchatka Krai, LIP – Lipetsk region, NOV – Novgorod region, NOS – Novosibirsk region, ORL – Oryol region, ROS – Rostov region, SAM – Samara region, SAR – Saratov region, SAK – Sakhalin region, TAT – Tatarstan, TVE – Tver region, UDM – Udmurtia, YAR – Yaroslavl region.

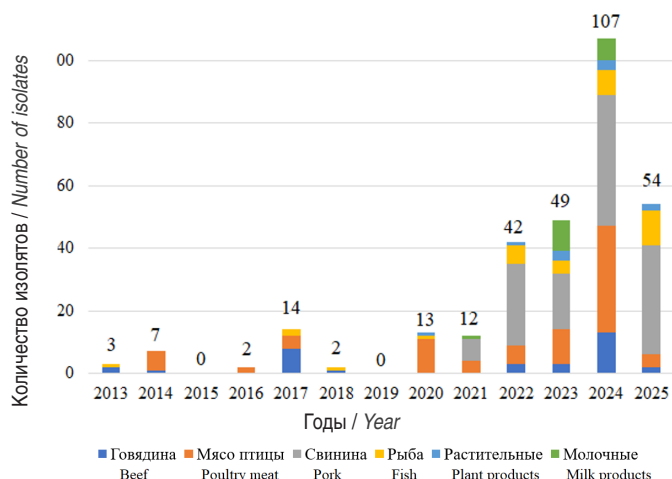


Рис. 1. Изоляты *L. monocytogenes*, выделенные из 6 типов пищевых продуктов в 2013–2025 гг.
 Fig. 1. *L. monocytogenes* isolates collected from six food product types in 2013–2025.

JVCHZL010000000, JVCHXD000000000 и JVBCHYZ010000000 (BioProject: PRJNA269675)

Результаты

Изоляты *L. monocytogenes*

В данном исследовании среди 305 изолятов *L. monocytogenes*, выделенных в период с 2013 по 2025 г. из пищевых продуктов в 19 субъектах РФ, наибольшая часть изолятов (62%) была выделена в Вологодской области (табл. 1).

Исследуемые изоляты *L. monocytogenes* были выделены из 6 типов пищевых продуктов: свинины (42%), мяса птицы (27%), говядины (11%), рыбных (11%), молочных (6%) и растительных (3%) продуктов. Таким образом, доля изолятов, полученных из мясных продуктов (свинины, говядины и птицы), составила 80% (рис. 1).

Микробиологические свойства изолятов *L. monocytogenes*

Культурально-морфологические, биохимические и иммунологические свойства изучаемых культур *L. monocytogenes*,

выращенных на селективных и дифференциально-диагностических питательных средах, соответствовали описанным ранее свойствам данного вида микроорганизмов [19].

Полногеномное секвенирование

Оценка качества полногеномных последовательностей изучаемых изолятов показала, что они соответствуют критериям, предъявляемым к результатам полногеномного секвенирования: количество контигов в сборках геномов составило от 20 до 100, размеры геномов – от 2 629 789 до 3 377 920 п.н., количество генов – от 2928 до 3764, GC-состав – ~40%, что соответствует референсным значениям данных показателей для вида *L. monocytogenes*.

Сиквенс-типы изолятов *L. monocytogenes*

MLST-анализ полных геномов изучаемых изолятов *L. monocytogenes* дифференцировал их на 47 сиквенс-типов, в т.ч. 9 ST гипервирулентной линии I и 38 ST гиповирулентной линии II. Наиболее представленными ST в данной коллекции были ST9 (21%), ST37 (13%), ST121 (10%), ST8 (9%), ST7 (6%) и ST451 (6%). В целом доля изолятов линии I составила 6%, линии II – 94% (рис. 2).

Изоляты *L. monocytogenes* ST9

Изоляты *L. monocytogenes* наиболее представленного в изучаемой коллекции ST9 ($n = 65$) явились предметом дальнейшего изучения. Данные изоляты были выделены в 2014–2025 гг., преимущественно из мясных продуктов (95%), реже – из рыбных ($n = 2$) и молочных ($n = 1$) продуктов. У изолятов *L. monocytogenes* ST9 идентифицированы две серогруппы – IIa (35%) и IIc (65%), при этом корреляции между серогрупповой принадлежностью и каким-либо источником выделения не выявлено (табл. 2).

Острова стрессоустойчивости и гены резистентности к антимикробным препаратам и тяжелым металлам

В геномах всех 65 изолятов *L. monocytogenes* ST9 с идентичностью >99% идентифицирован остров стрессоустойчивости SSI-1, обеспечивающий устойчивость к воздействию кислот, желчи, желудочного содержимого и солей, тем самым дающий возможность бактериям размножаться и

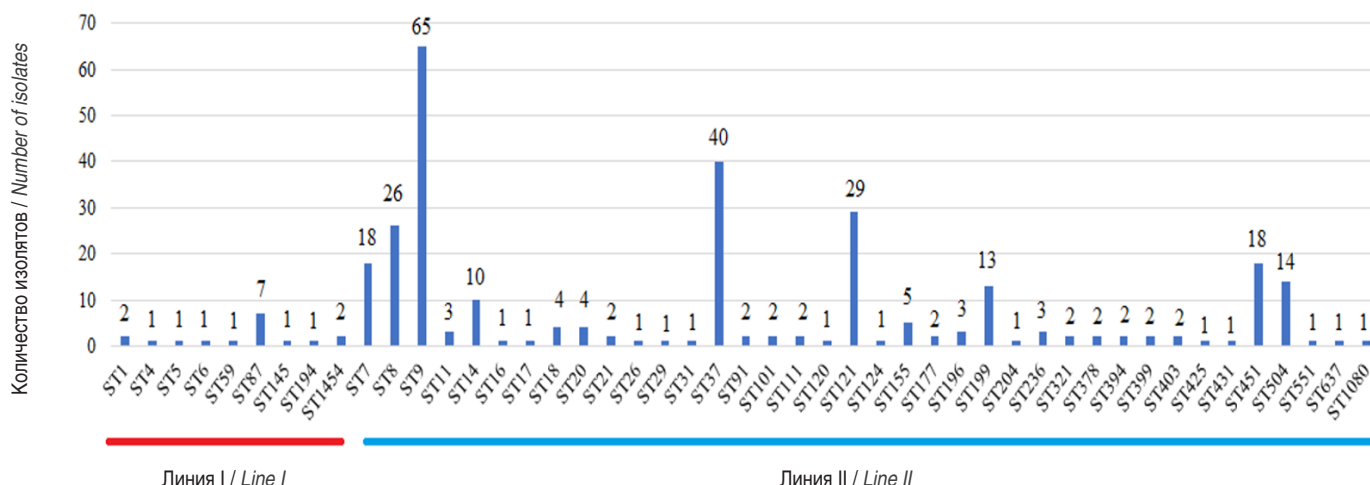


Рис. 2. Представленность сиквенс-типов *L. monocytogenes* среди изолятов, выделенных из пищевых продуктов в 2013–2025 гг.
 Fig. 2. Prevalence of *L. monocytogenes* sequence types among isolates collected from food products in 2013–2025.

Таблица 2. Серогруппы изолятов *L. monocytogenes* ST9, выделенных из разных пищевых продуктов
 Table 2. Serogroups of *L. monocytogenes* ST9 isolates collected from different food products

Пищевой продукт / Food products	Серогруппа / Количество изолятов / Serogroup / Number of isolates	
	IIa	IIc
Свинина / Pork	13	20
Мясо птицы / Poultry meat	6	15
Говядина / Beef	2	6
Рыбные продукты / Fish products	1	1
Молочные продукты / Milk products	1	0
Всего / Total	23	42

выживать в стрессовых условиях на предприятиях пищевой промышленности. В состав SSI-1 входят 5 генов (*lmo0444–lmo0448*), в т.ч. *pva* (*lmo0446*), кодирующий пенициллин-V-амидазу, *gadD1* (*lmo0447*), определяющий глутаматдекарбоксилазу, и *gadT1* (*lmo0448*), детерминирующий транспортер аминокислот. Все изоляты также несли генетические детерминанты устойчивости к фосфомицину (*fos*), линкозамидам (*lin*), гликопептидам (*mprF*), хинолонам (*norB*) и сульфаниламидам (*sul*) (рис. 3).

Гены, входящие в состав листериозного геномного острова LGI-1, ассоциированные с толерантностью к бензалкония хлориду (*bcrABC* и *emrEC*), выявлены у значительной части (48 и 40% соответственно) изолятов. Кроме того, у всех 100% штаммов идентифицированы компоненты листериозного геномного острова LGI-2, обеспечивающие адаптацию к мышьяку (*arsABDR*), а у 22% штаммов – еще и гены геномного острова LGI-3, определяющие устойчивость к кадмию (*cadAC*) (рис. 3). Наличие LGI-3, несущего также генетические детерминанты биопленкообразования, рекомбинации, транспозиции, синтеза бактериоцина листериолизина S, свидетельствует о высоком патогенном потенциале изучаемых изолятов *L. monocytogenes*.

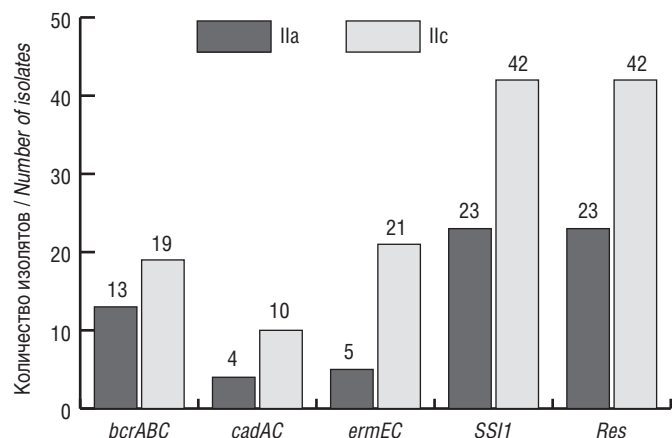


Рис. 3. Представленность генов устойчивости к тяжелым металлам (*bcrABC*, *cadAC* и *emrEC*), острова стрессоустойчивости SSI1 и генов антибиотикорезистентности Res (*fos*, *lin*, *mprF*, *norB* и *sul*) в геномах изолятов *L. monocytogenes* ST9.

Fig 3. Prevalence of heavy metal resistance genes (*bcrABC*, *cadAC*, and *emrEC*), stress resistance island SSI1 and antibiotic resistance genes Res (*fos*, *lin*, *mprF*, *norB*, and *sul*) in the genomes of *L. monocytogenes* ST9 isolates.

Генетические детерминанты патогенности

Гены, кодирующие детерминанты патогенности, в геномах изолятов *L. monocytogenes* ST9 локализованы как в составе генетических островов, так и некластеризованно. Остров патогенности *Listeria* LIPI-1 (*actA*, *hly*, *mpl*, *plcA*, *plcB* и *prfA*), а также большинство из 51 других генов вирулентности идентифицированы во всех изучаемых изолятах, в то время как гены *inlP* (интернализация), *ami* (инвазия), *opp* (выживание внутри клетки хозяина) и *lspA* (закрепление поверхностных белков) отсутствовали у отдельных изолятов. Все изоляты *L. monocytogenes* ST9 лишены LIPI-4 (6 генов, кодирующих систему фосфотрансфераз семейства целлобиозы PTS), важного для реализации инвазивных инфекций, таких как инфекции центральной нервной системы и плаценты, а также гена *inlD*, ответственного за инвазию бактерий в фагоциты; только в одном изоляте выявлен профаг с геном *comK*, контролирующим биопленкообразование и вирулентность. Особо следует отметить то, что все изучаемые изоляты *L. monocytogenes* ST9 имели стоп-кодон в гене *inlA*, что предсказывает продукцию укороченной неактивной формы интерналина А (табл. 3).

Плазмидные репликоны

Методом анализа *in silico* в геномах 34 (52%) изолятов *L. monocytogenes* ST9 идентифицированы плазмиды группы несовместимости Inc18 (*rep25*), имеющие 100% гомологии участка размером 1761 п.н. с мозаичной плазмидой pLM33 из базы данных GenBank (GU244485), описанной в 2010 г. в штаммах *L. monocytogenes*, выделенных в Испании из пищевых продуктов (мягких сыров) [23]. В нашей работе данная плаزمида детектирована в изолятах *L. monocytogenes* ST9, выделенных в 2014–2025 гг. из свинины ($n = 19$), птицепродуктов ($n = 9$), говядины ($n = 5$) и молока ($n = 1$) (рис. 4).

Филогенетический анализ изолятов

L. monocytogenes ST9

Филогенетическое дерево демонстрирует высокую степень генетической гетерогенности геномов изолятов *L. monocytogenes* ST9, изучаемых в данном исследовании. Идентифицировано 5 геномных кластеров, среди которых преобладающим являлся GC15 ($n = 35$), менее представленными – GC13056 ($n = 2$), GC6 ($n = 1$), GC1012 ($n = 1$) и GC4172 ($n = 1$). Все изоляты с идентифицированными GC были выделены в Вологодской области, кроме 7 изолятов GC15, выделенных в Сахалинской области, и 1 изолята GC1012, выделенного в Москве. Остальные 25 изолятов отнесены к 6 кластерам, для которых не определены GC, но идентифицированы наиболее близкие геномы в базе данных BIGSdb-Lm: id59120 ($n = 10$), id16323 ($n = 5$), id59418 ($n = 3$), id72022 ($n = 3$), id58788 ($n = 2$) и id70420 ($n = 1$). Все изоляты данных кластеров были выделены в Вологодской области, кроме 2 изолятов кластера id58788, выделенных в Москве, и 1 изолята кластера id70420, выделенного в Новгородской области. Не выявлено статистически достоверной ассоциации между отдельными кластерами геномов на филогенетическом дереве и источниками выделения изолятов *L. monocytogenes* ST9 (рис. 4).

У изолятов *L. monocytogenes* ST9, выделенных в 2021–2024 гг., отмечено увеличение представленности плазмиды

Таблица 3. Представленность генов факторов патогенности в геномах изолятов *L. monocytogenes* ST9
 Table 3. Prevalence of pathogenicity factor genes in the genomes of *L. monocytogenes* ST9 isolates

Факторы патогенности / Pathogenicity factors	Гены / Genes	Функция / Function	Количество изолятов / Number of isolates		
			IIa	IIc	Всего / Total
LIPI-1	<i>actA</i> <i>hly</i> <i>mpl</i> <i>plcAB</i> <i>prfA</i>	– сборка актинового хвоста / <i>actin tail assembly</i> – листериолизин О / <i>listeriolysin O</i> – Zn-металлопротеаза / <i>Zn-metalloprotease</i> – фосфолипазы А, В / <i>phospholipases A, B</i> – индуктор транскрипции LIPI-1 / <i>transcription inducer</i>	23	42	65
LIPI-2	<i>inlA*</i> <i>inlB</i> <i>inlC</i> <i>inlC2</i> <i>inlD</i> <i>inlE-K</i> <i>inlL</i> <i>inlP</i>	– инвазия эпителия / <i>epithelial invasion</i> – активная инвазии / <i>active invasion</i> – интерналин С / <i>internalin C</i> – распространение / <i>spreading</i> – инвазия в фагоциты / <i>invasion of phagocytes</i> – интерналины InlE-InlK / <i>internals InlE-InlK</i> – начальная адгезия / <i>initial adhesion</i> – секретируемый фактор / <i>secreted factor</i>	22 23 23 23 0 23 23 21	40 42 42 42 0 42 42 42	62 65 65 65 0 65 65 63
Адгезия / Adhesion	<i>ami</i> <i>dltA</i> <i>fbpA</i> <i>lapAB</i> <i>pdeE</i>	– адгезия / <i>adhesion</i> – синтез ТК / <i>synthesis of TA</i> – многофункциональный фактор / <i>multifunctional</i> – контакт с Hsp60 / <i>contact with Hsp60</i> – фосфодиестераза PdeE / <i>phosphodiesterase PdeE</i>	16 23 23 23 23	38 42 42 42 42	54 65 65 65 65
Инвазия / Invasion	<i>aut</i> <i>cwhA</i> <i>lpeA</i> <i>vip</i>	– аутолитическая амидаза / <i>autolytic amidase</i> – инвазин, гидролаза / <i>invasin, hydrolase</i> – инвазия / <i>invasion</i> – контакт с Gp9 ЭР / <i>contact with Gp9 of ER</i>	23 23 23 23	42 42 42 42	65 65 65 65
Выживание внутри клетки хозяина / Survival inside the host cell	<i>hpt</i> <i>lplA1</i> <i>opp</i> <i>prsA2</i> <i>purQ</i> <i>svpA</i>	– транспортер / <i>transporter</i> – липоил-пептидаза / <i>lipoyl peptidase</i> – олигопептидная пермеаза / <i>oligopeptide permease</i> – регуляция транскрипции / <i>regulation of transcription</i> – связывание с НК / <i>nucleic acid binding</i> – поверхностный белок / <i>surface protein</i>	23 23 22 23 23 23	42 42 42 42 42 42	65 65 64 65 65 65
Регуляция транскрипции и трансляции / Regulation of transcription and translation	<i>agrAC</i> <i>cheAY</i> <i>codY</i> <i>fur</i> <i>lisKR</i> <i>stp</i> <i>virRS</i>	– биопленкообразование / <i>biofilm formation</i> – хемотаксис / <i>chemotaxis</i> – глобальный регулятор / <i>global regulator</i> – Fe ²⁺ -зависимый репрессор / <i>Fe²⁺-dependent repressor</i> – регулятор транскрипции / <i>transcription regulator</i> – регулятор трансляции / <i>translation regulator</i> – регулятор ответа / <i>response regulator</i>	23 23 23 23 23 23 23	42 42 42 42 42 42 42	65 65 65 65 65 65 65
Биосинтез ТК / TK biosynthesis	<i>gtcA</i> <i>tagB</i>	– гликозилирование ТК / <i>TA glycosylation</i> – синтез ТК / <i>TA synthesis</i>	23 23	42 42	65 65
Закрепление поверхностных белков / Anchoring of surface proteins	<i>lgt</i> <i>lspA</i> <i>srtAB</i>	– глицерил-трансфераза / <i>glyceryl transferase</i> – сигнальная пептидаза / <i>signal peptidase</i> – сортазы, закрепляющие InlA / <i>sortases anchoring InlA</i>	23 22 23	42 42 42	65 64 65
Модификация пептидогликана / Peptidoglycan modification	<i>oatA</i> <i>pdgA</i>	– O-ацетилтрансфераза / <i>O-acetyltransferase</i> – N-деацетилаза / <i>N-deacetylase</i>	23 23	42 42	65 65
Модификация иммунитета / Modification of immunity	<i>IntA</i>	– образование гетерохроматина в ядре клетки-хозяина / <i>formation of heterochromatin in the host cell nucleus</i>	23	42	65
Резистентность к ЖК / Resistance to FA	<i>bsh</i> <i>mdrM</i>	– гидролиз ЖК / <i>hydrolysis of fatty acids</i> – MDR-транспортер / <i>MDR-transporter</i>	23 23	42 42	65 65
Профаг <i>φcomK</i> / Prophage <i>φcomK</i>	<i>comK</i>	– биопленкообразование / <i>biofilm formation</i>	0	1	1

НК – нуклеиновые кислоты; ТК – тейхоевые кислоты; ЖК – желчные кислоты; *inlA** – ген интерналина А, поврежденный стоп-кодоном; ЭР – эндоплазматический ретикулум; MDR – множественная резистентность; жирным шрифтом выделено количество изолятов, несущих гены с менее чем 100%-й представленностью в изучаемой коллекции.

NA – nucleic acids; TA – teichoic acids; BA – bile acids; *inlA** – *internalin A gene damaged by a stop codon*; ER – endoplasmic reticulum; MDR – multiple resistance; the number of isolates carrying genes with less than 100% representation in the studied collection is shown in bold.

Обсуждение

Inc18 (*rep25*) (32/55, 58%) по сравнению с таковой в период 2014–2020 гг. (2/10, 20%). Среди изолятов, выделенных в Вологодской области в данные периоды времени, представленность плазмиды Inc18 (*rep25*) возросла с 0 до 60% (рис. 4). Данная плазмида идентифицирована в изолятах *L. monocytogenes* ST9, отнесенных к кластерам GC15 (*n* = 12), id59120 (*n* = 8), id16323 (*n* = 5), id59418 (*n* = 3), id72022 (*n* = 3), GC1012 (*n* = 1), id58788 (*n* = 1) и id70420 (*n* = 1) (рис. 4).

Данное исследование посвящено изучению популяционной структуры и генетических особенностей *L. monocytogenes* сиквенс-типа ST9, выделенных из пищевых продуктов в 19 субъектах РФ в 2014–2025 гг. Показано, что изоляты ST9 были наиболее представлены среди других изолятов *L. monocytogenes* (65/305, 21%). Ранее в сообщениях из раз-

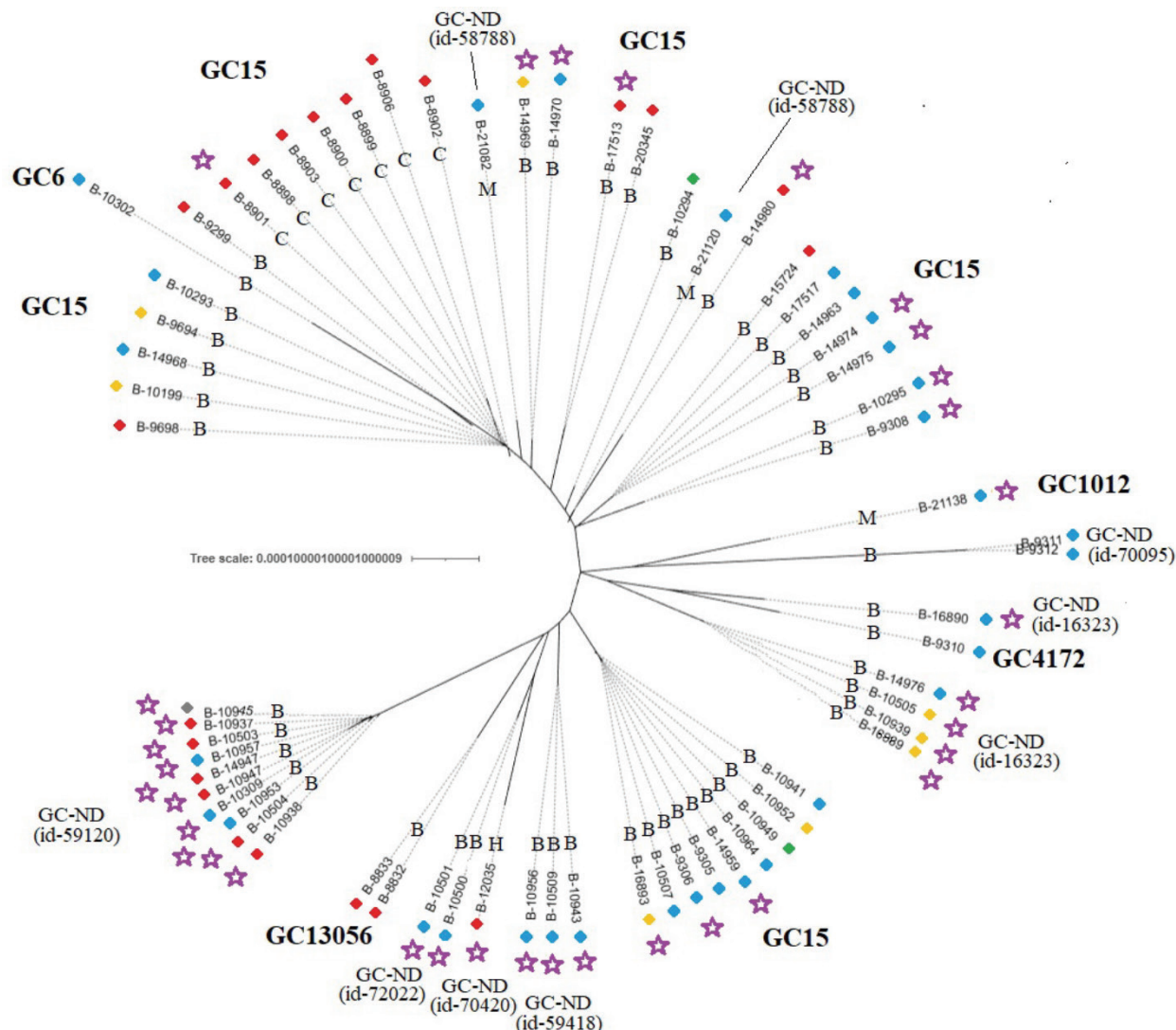


Рис. 4. Филогенетическое дерево изолятов *L. monocytogenes* ST9 с указанием идентифицированных с помощью веб-ресурса BIGSdb-Lm номеров геномных комплексов (GC) и неидентифицированных (GC-ND, в скобках указан id наиболее близкого профиля); источников выделения изолятов: свинина (голубой ромб), говядина (желтый ромб), птицепродукты (красный ромб), рыбные продукты (зеленый ромб), молоко (серый ромб); субъектов РФ: Вологодская обл. (B), Москва (M), Сахалинская обл. (C), Новгородская обл. (H), и наличия плазмиды группы несовместимости Inc18 (rep25) (звездочка).

Fig. 4. Phylogenetic tree of *L. monocytogenes* ST9 isolates indicating the numbers of genomic complexes (GC) identified using the BIGSdb-Lm web resource and unidentified ones (GC-ND, the ID of the closest profile is given in brackets); sources of isolation of isolates: pork (blue diamond), beef (yellow diamond), poultry products (red diamond), fish products (green diamond), milk (gray diamond); subjects of the Russian Federation: Vologda Region (B), Moscow (M), Sakhalin Region (C), Novgorod Region (H) and the presence of the plasmid of the Inc18 incompatibility group (rep25) (star).

ных регионов мира и из РФ отмечалось, что *L. monocytogenes* ST9 является наиболее распространенным клоном данного вида листерий начиная с 2000 г., тесно ассоциированным с мясными продуктами и производствами мясопереработки [15, 16, 24, 25]. Эти наблюдения указывали, что изоляты ST9 хорошо адаптированы к выживанию в условиях производства мяса; данная гипотеза была подтверждена экспериментами *in vitro*, в которых было зафиксировано вытеснение изолятов других генотипов при совместном выращивании в питательной среде на основе мяса [17].

В нашем исследовании изоляты *L. monocytogenes* ST9 были выделены из 6 типов пищевых продуктов, среди которых доля мясных продуктов (свинины, говядины и птицы) составила 80%. В геномах всех 100% изолятов идентифицирован остров стрессоустойчивости SSI-1, ассоциированный с толерантностью к воздействию кислот, желчи, желудочного

содержимого и солей, дающий возможность бактериям выживать в условиях производства пищевых продуктов. Этот показатель превысил опубликованный ранее уровень представленности SSI-1 (45%) у штаммов *L. monocytogenes*, относящихся преимущественно к гиповирулентной линии II, к которой принадлежит ST9 [26]. Наши данные согласуются с опубликованными ранее сообщениями о том, что *L. monocytogenes* ST9 широко известен как клон, адаптированный к стрессовым условиям и обладающий повышенной устойчивостью к условиям производства пищевых продуктов, включая устойчивость к дезинфицирующим средствам, антисептикам, холоду и высокой концентрации соли [17].

Основу для адаптации к различным условиям окружающей среды изолятов *L. monocytogenes* ST9 обеспечивает наличие открытого генома, допускающего его пополнение за счет мобильных генетических элементов и горизонталь-

ного переноса генов [27]. В нашем исследовании у изолятов *L. monocytogenes* ST9 идентифицированы 2 серогруппы – IIa (35%) и IIc (65%), однако корреляции между серогрупповой принадлежностью и каким-либо источником выделения не выявлено. С помощью cgMLST-типирования показана высокая степень генетической гетерогенности изолятов *L. monocytogenes* ST9: идентифицировано 11 геномных кластеров, среди которых преобладающим являлся GC15 (54%), менее представленными – id59120 (15%), id16323 (8%), id59418 (5%) и id72022 (5%), представленными единичными изолятами – GC13056, GC6, GC1012, GC4172, id58788 и id70420. Такая степень гетерогенности согласуется с опубликованными ранее работами, в которых отмечалось популяционное разнообразие изолятов *L. monocytogenes* ST9, выделенных на пищевых производствах, и возможность использования cgMLST-типирования для характеристики разнообразия популяций *L. monocytogenes* и динамики их persistence в экологических нишах [10].

Гетерогенность изучаемой коллекции изолятов *L. monocytogenes* ST9 также связана с обнаружением у значительной части (52%) изолятов плазмиды группы несовместимости Inc18 (rep25), которая имела 100%-ю гомологию участка размером 1761 п.н. с мозаичной плазмидой pLM33 из базы данных GenBank (GU244485), описанной в 2010 г. в штаммах *L. monocytogenes*, выделенных в Испании из мягких сыров [23]. Поиск в базе данных GenBank показал, что плаزمиды pLM33 широко распространены среди штаммов *L. monocytogenes* по всему миру: найдено более 70 плазмид с идентичностью 100% в геномах штаммов, выделенных в период с 1900-х по 2024 г. в Европе, США, Канаде, Австралии и Китае из пищевых продуктов, смывов на пищевых производствах и от людей. Данная плаزمиды была также идентифицирована в клинических штаммах *L. monocytogenes*, выделенных в РФ в лаборатории анализа геномов НИЦ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф.Гамалеи в 2021 г. (OM867528.1) и 2024 г. (PQ415725.1), а также в штамме *L. welshimeri*, изолированном из смыва на пищевом производстве (MZ869809.1). Последнее подтверждает возможность вовлечения в эволюционно-эпидемиологический процесс возбудителя листериоза не только *L. monocytogenes* разных генетических линий, но и непатогенных видов листерий [28].

В геномах всех изучаемых нами изолятов *L. monocytogenes* ST9 идентифицированы гены устойчивости к антимикробным препаратам 5 функциональных групп – фосфомицину *fos*, линкозамидам *lin*, гликопептидам *mprF*, хинолонам *norB* и сульфаниламидам *sul*, что позволяет отнести их к категории мультирезистентных (MDR). Изолятов, резистентных к препарату выбора при терапии листериоза ампициллину, в нашем исследовании не выявлено, как и в ранее опубликованном сообщении [25]. Хотя устойчивость *L. monocytogenes* к антибиотикам в настоящее время не представляет собой серьезную проблему, имеются факты, вызывающие беспокойство медицинского сообщества, о высоком уровне представленности MDR-изолятов среди *L. monocytogenes* ST9 (например, в Китае она составила ~39%) [29]. В то же время большинство MDR-изолятов *L. monocytogenes* (92%) в Китае принадлежали к ST9, у которых наиболее распространенным мобильным генетическим элементом была плазми-

да rep25, несущая 7 типов генов устойчивости – к аминогликозидам, триметоприму, макролидам, линкозамидам, стрептограмину, тетрациклину и фениколам [30].

До настоящего времени остается открытым вопрос о потенциальной опасности *L. monocytogenes* ST9 в качестве возбудителя листериоза. С одной стороны, документированные случаи листериоза, вызванного данным генотипом *L. monocytogenes*, крайне редки, и это объясняется характерными особенностями его наборов генов патогенности, а именно отсутствием или поврежденностью некоторых генов, важных для проявления вирулентности. В нашем исследовании в геномах всех изолятов *L. monocytogenes* ST9 идентифицирован остров патогенности *Listeria* LIPI-1 (*actA*, *hly*, *mpl*, *plcA*, *plcB* и *prfA*), а также большинство из 51 других генов вирулентности, в то время как гены *inlP* (интернализация), *ami* (инвазия), *opp* (выживание внутри клетки хозяина) и *lspA* (закрепление поверхностных белков) отсутствовали у отдельных изолятов. Все изучаемые нами изоляты *L. monocytogenes* ST9 были лишены важного для реализации инвазивных инфекций острова LIPI-4 (6 генов, кодирующих систему фосфотрансфераз семейства целлобиозы PTS), а также гена *inlD*, ответственного за инвазию бактерий в фагоциты; только в одном изоляте был выявлен профаг с геном *comK*, контролирующим биопленкообразование и вирулентность. Все 100% изучаемых изолятов *L. monocytogenes* ST9 имели стоп-кодон в гене *inlA*, что предсказывает продукцию укороченной неактивной формы интерналина А. Перечисленные особенности изолятов данного генотипа отмечались ранее во многих исследованиях как значимые для проявления его гиповирулентного фенотипа [14, 31].

С другой стороны, редкие случаи листериоза человека, вызванные изолятами *L. monocytogenes* ST9, содержащими мутантный ген *inlA*, все-таки описаны в литературе [14]. Это указывает на возможность компенсации сниженной инвазивной активности таких изолятов за счет других внутриклеточных механизмов. Например, показано, что потенциально вирулентность штамма может возрасти за счет кассеты LGI2, несущей генетический кластер эффлюксного насоса устойчивости к мышьяку, который может контролировать дополнительные клеточные функции или влиять на приспособляемость изолятов ST9 к окружающей среде. LGI2 идентифицирован во всех изучаемых нами изолятах *L. monocytogenes* ST9, а у 22% изолятов дополнительно был выявлен геномный остров LGI-3, определяющий устойчивость к кадмию, способность к биопленкообразованию, рекомбинации, транспозиции, синтезу бактериоцина листериолизина S, который также ассоциирован с возможностью повышения патогенного потенциала *L. monocytogenes* [14].

Все вышесказанное подчеркивает необходимость постоянного наблюдения и мониторинга потенциального появления более вирулентных вариантов *L. monocytogenes* ST9 для снижения риска будущих вспышек листериоза.

Заключение

В данном исследовании с помощью полногеномного секвенирования изучена популяционная структура и генетические особенности изолятов *L. monocytogenes* ST9, выделен-

ных в РФ в 2014–2025 гг. Выявлена существенная гетерогенность изучаемых изолятов: определена принадлежность к двум серогруппам – IIa (35%) и IIc (65%), идентифицировано 11 геномных кластеров, среди которых преобладающим являлся GC15 (54%), у значительной части (52%) изолятов идентифицированы плазмиды группы несовместимости Inc18 (rep25). Во всех изолятах ST9 были идентифицированы 45 генетических детерминант патогенности, гены устойчивости к антибиотикам 5 функциональных групп, остров стрессоустойчивости SSI1 и геномный остров LGI-2. Кроме того, у части изолятов выявлены дополнительно еще 6 генетических детерминант патогенности в разных сочетаниях, кластеры резистентности к антисептикам и тяжелым металлам в составе геномных островов LGI1 и LGI3. Вариабельность геномов *L. monocytogenes* ST9 играет важную роль в обеспечении изолятам данной генетической линии способности выживать в разнообразных стрессовых условиях окружающей среды и в сохранении возможности проявления вирулентных свойств.

Полученные результаты послужат основой для будущих исследований, направленных на определение потенциальных механизмов, ответственных за тесную ассоциацию *L. monocytogenes* ST9 с мясными пищевыми продуктами и их производством, а также могут быть полезны для разработки эффективных стратегий контроля и профилактики пищевого листериоза, вызываемого *L. monocytogenes*.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Financial support

The work was carried out within the framework of the sectoral program of Rosпотребнадзор

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 / References

- Blanchard F, Henry B, Vijayarathnam S, Canoui E, Moura A, Thouvenot P, et al. *Listeria monocytogenes*-associated spontaneous bacterial peritonitis in France: a nationwide observational study of 208 cases. *Lancet Infect Dis*. 2024;24(7):783-792. DOI: 10.1016/S1473-3099(24)00151-8
- Груздева ОА, Тартаковский ИС, Малеев ВВ, Сaitгареев РШ, Кормилицина ВГ, Шарапченко СО, и др. *Listeria monocytogenes* сегодня. Российский медицинский журнал. 2021;27(5):491-500. / Gruzdeva OA, Tartakovsky IS, Maleev VV, Saitgariev RS, Kormilitsina VG, Sharapchenko SO, et al. *Listeria monocytogenes* today. *Russian Medicine*. 2021;27(5):491-500. DOI: 10.17816/0869-2106-2021-27-5-491-500 (In Russian).
- Rodríguez-López P, Rodríguez-Herrera JJ, Vázquez-Sánchez D, López Cabo M. Current knowledge on *Listeria monocytogenes* biofilms in food-related environments: incidence, resistance to biocides, ecology and biocontrol. *Foods*. 2018;7(6):85. DOI: 10.3390/foods7060085
- Niu Y, Li W, Xu B, Chen W, Qi X, Zhou Y, et al. Risk factors associated with food consumption and food-handling habits for sporadic listeriosis: a case-control study in China from 2013 to 2022. *Emerg Microbes Infect*. 2024;13(1):2307520. DOI: 10.1080/22221751.2024.2307520
- Jamshidi A, Zeinali T. Significance and characteristics of *Listeria monocytogenes* in poultry products. *Int J Food Sci*. 2019;2019:7835253. DOI: 10.1155/2019/7835253
- Lagarde J, Feurer C, Denis M, Douarre PE, Piveteau P, Roussel S. *Listeria monocytogenes* prevalence and genomic diversity along the pig and pork production chain. *Food Microbiol*. 2024;119:104430. DOI: 10.1016/j.fm.2023.104430
- Hua Z, Zhu MJ. Comprehensive strategies for controlling *Listeria monocytogenes* biofilms on food-contact surfaces. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2024;23(3):e13348. DOI: 10.1111/1541-4337.13348
- Speich C, Stephan R, Dhima N, Hollenstein F, Horlbog J, Delvento G, et al. Rapid detection of the source of a *Listeria monocytogenes* outbreak in Switzerland through routine interviewing of patients and whole-genome sequencing. *Swiss Med Wkly*. 2024;154:3745. DOI: 10.57187/s.3745
- Fagerlund A, Wagner E, Møretro T, Heir E, Moen B, Rychli K, et al. Pervasive *Listeria monocytogenes* is common in the Norwegian food system and is associated with increased prevalence of stress survival and resistance determinants. *Appl Environ Microbiol*. 2022;88(18):e0086122. DOI: 10.1128/aem.00861-22
- Fagerlund A, Langsrud S, Møretro T. In-depth longitudinal study of *Listeria monocytogenes* ST9 isolates from the meat processing industry: resolving diversity and transmission patterns using whole-genome sequencing. *Appl Environ Microbiol*. 2020;86(14):e00579-20. DOI: 10.1128/AEM.00579-20
- Moura A, Criscuolo A, Pouseele H, Maury MM, Leclercq A, Tarr C, et al. Whole genome-based population biology and epidemiological surveillance of *Listeria monocytogenes*. *Nat Microbiol*. 2016;2:16185. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.185
- Maury MM, Tsai YH, Charlier C, Touchon M, Chenal-Francois V, Leclercq A, et al. Uncovering *Listeria monocytogenes* hypervirulence by harnessing its biodiversity. *Nat Genet*. 2016;48(3):308-313. DOI: 10.1038/ng.3501
- Wiśniewski P, Adamski P, Trymers M, Chajęcka-Wierzychowska W, Zadernowska A. Predicting antibiotic resistance in *Listeria monocytogenes* from food and food-processing environments using next-generation sequencing: A systematic review. *Int J Mol Sci*. 2025;26(20):10112. DOI: 10.3390/ijms262010112
- Song Z, Ji S, Wang Y, Luo L, Wang Y, Mao P, et al. The population structure and genetic diversity of *Listeria monocytogenes* ST9 strains based on genomic analysis. *Front Microbiol*. 2022;13:982220. DOI: 10.3389/fmicb.2022.982220
- Chikhi L, Mancier M, Brugère H, Lombard B, Faouzi L, Guillier L, et al. Comparison of *Listeria monocytogenes* alternative detection methods for food microbiology official controls in Europe. *Int J Food Microbiol*. 2024;408:110448. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110448
- Li W, Bai L, Fu P, Han H, Liu J, Guo Y. The Epidemiology of *Listeria monocytogenes* in China. *Foodborne Pathog Dis*. 2018;15(8):459-466. DOI: 10.1089/fpd.2017.2409
- Heir E, Møretro T, Simensen A, Langsrud S. *Listeria monocytogenes* strains show large variations in competitive growth in mixed culture biofilms and suspensions with bacteria from food processing environments. *Int J Food Microbiol*. 2018;275:46-55. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.03.026
- Фурсов МВ, Соломенцева АЕ, Шишкина ЛА, Детушев КВ, Мухина ТН, Козлов АИ, и др. Геномы штаммов *Listeria monocytogenes*, выделенных от пациентов с инвазивными формами листериоза и из пищевых продуктов. *Бактериология*.

- 2025;10(1):112-115. / Fursov MV, Solomentseva AE, Shishkina LA, Detushev KV, Mukhina TN, Kozlov AI, et al. Genomes of *Listeria monocytogenes* strains isolated from patients with invasive listeriosis and from foods. Bacteriology. 2025;10(1):112-115. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-112-115 (In Russian).
19. Алексеева ЕА, Миронов АЮ, Полосенко ОВ, Шепелин АП, Храмов МВ. Выделение и идентификация листерий из клинического материала. Клиническая лабораторная диагностика. 2022;67(6):362-368. / Alekseeva EA, Mironov AYU, Polosenko OV, Shepelin AP, Khramov MV. Isolation and identification of listeria in clinical material. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2022;67(6):362-368. DOI: 10.51620/0869-2084-2022-67-6-362-368 (In Russian).
20. Carattoli A, Zankari E, García-Fernández A, Voldby Larsen M, Lund O, Villa L, et al. In silico detection and typing of plasmids using PlasmidFinder and plasmid multilocus sequence typing. Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(7):3895-903. DOI: 10.1128/AAC.02412-14
21. Camacho C, Coulouris G, Avagyan V, Ma N, Papadopoulos J, Bealer K, et al. BLAST+: architecture and applications. BMC Bioinformatics. 2009;10:421. DOI: 10.1186/1471-2105-10-421
22. Алексеева ЕА, Фурсова НК, Борзенков ВН, Фурсов МВ, Говорунов ИГ. База данных «Распространенность генетических линий *Listeria monocytogenes* в пищевых продуктах на территории Вологодской области». Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2025621469 от 02.04.2025. Заявка №2025620886 от 18.03.2025. / Alekseeva EA, Fursova NK, Borzenkov VN, Fursov MV, Govorunov IG. Database "Prevalence of *Listeria monocytogenes* genetic lineages in food products in the Vologda Oblast". Certificate of state registration of the database No 2025621469 dated 02.04.2025. Application No 2025620886 dated 18.03.2025. (In Russian).
23. Canchaya C, Giubellini V, Ventura M, de los Reyes-Gavilán CG, Margolles A. Mosaic-like sequences containing transposon, phage, and plasmid elements among *Listeria monocytogenes* plasmids. Appl Environ Microbiol. 2010 Jul;76(14):4851-7. DOI: 10.1128/AEM.02799-09
24. He Y, Luo Z, Deng H, Chen Q, Luo Y, Li Z, et al. Genomic Insights into Antibiotic Resistance and Virulence of *Listeria monocytogenes* Isolated from Chongqing, China. Foodborne Pathog Dis. 2025;22(10):700-708. DOI: 10.1089/fpd.2024.0085
25. Михайлова ЮВ, Молчанов АД, Шеленков АА, Тюменцева МА, Карбышев КС, Тюменцев АИ, и др. Гетерогенность антибиотикорезистентных изолятов *Listeria monocytogenes*, выделенных из пищевой продукции в Москве. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2023;22(6):108-123. / Mikhailova YuV, Molchanov AD, Shelenkov AA, Tyumentseva MA, Karbyshev KS, Tyumentsev AI, et al. Heterogeneity of antibiotic-resistant *Listeria monocytogenes* isolates isolated from food products in Moscow. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2023;22(6):108-123. DOI: 10.31631/2073-3046-2023-22-6-108-123 (In Russian).
26. Wang W, Zhong Y, Jia J, Ma L, Lu Y, Wang Q, et al. Genomic Landscape and Antimicrobial Resistance of *Listeria monocytogenes* in Retail Chicken in Qingdao, China. Foods. 2025;14(18):3260. DOI: 10.3390/foods14183260
27. Zhang B, Sun W, Wang X, Ren H, Wang Y, Hu S, et al. Exploration of the biodiversity and mining novel target genes of *Listeria monocytogenes* strains isolated from beef through comparative genomics analysis. Front Microbiol. 2025;16:1560974. DOI: 10.3389/fmicb.2025.1560974
28. Kuenne C, Voget S, Pischmarov J, Oehm S, Goesmann A, Daniel R, et al. Comparative analysis of plasmids in the genus *Listeria*. PLoS One. 2010;5(9):e12511. DOI: 10.1371/journal.pone.0012511
29. Yan S, Li M, Luque-Sastre L, Wang W, Hu Y, Peng Z, et al. Susceptibility (re)-testing of a large collection of *Listeria monocytogenes* from foods in China from 2012 to 2015 and WGS characterization of resistant isolates. J Antimicrob Chemother. 2019;74(7):1786-1794. DOI: 10.1093/jac/dkz126
30. Li H, Sheng H, Zhao J, Zhang X, Li M, Zhao L, et al. Emerging threats: *Listeria monocytogenes* with acquired multidrug resistance from food in China, 2012–2022. Int J Food Microbiol. 2025;439:111236. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2025
31. Chu J, Shin JI, Lee MR, Chung YJ, Park KT, Jung SH. Prevalence and Genomic Characterization of *Listeria monocytogenes* in Retail Beef and Farm Samples in Korea. J Food Prot. 2025;88(11):100640. DOI: 10.1016/j.jfp.2025.100640

Информация о соавторах:

Борзенков Валерий Николаевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Мицевич Ирина Петровна, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Мухина Татьяна Николаевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Барькова Мария Рудольфовна, младший научный сотрудник отдела коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Федюкина Галина Николаевна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Козлов Алексей Игоревич, младший научный сотрудник отдела коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Храмов Михаил Владимирович, кандидат медицинских наук, заместитель директора ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Кузнецова Оксана Александровна, доктор технических наук, директор ФГБУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М.Горбатова» РАН

Юшина Юлия Константиновна, доктор технических наук, заместитель директора ФГБУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М.Горбатова» РАН

Грудистова Мария Александровна, научный сотрудник лаборатории гигиены производства и микробиологии ФГБУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М.Горбатова» РАН

Фурсова Надежда Константиновна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Valery N. Borzenkov, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Irina P. Mitsevich, Senior Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Tatiana N. Mukhina, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher of Culture Collection Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Maria R. Barkova, Junior Researcher of Culture Collection Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Galina N. Fedyukina, PhD in Chemical Sciences, Senior Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Aleksey I. Kozlov, Junior Researcher of Culture Collection Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Mikhail V. Khramov, PhD, MD, Deputy Director, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Oksana A. Kuznetsova, PhD, DSc (Technical Sciences), Director, V.M.Gorbatov Federal Scientific Center of Food Systems of the Russian Academy of Sciences

Yilia K. Yushina, PhD, DSc (Technical Sciences), Deputy Director, V.M.Gorbatov Federal Scientific Center of Food Systems of the Russian Academy of Sciences

Maria A. Grudistova, Researcher of the Industrial Hygiene and Microbiology Laboratory, V.M.Gorbatov Federal Scientific Center of Food Systems of the Russian Academy of Sciences

Nadezhda K. Fursova, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Минимизация биориска при обращении с инфицированными лабораторными животными

Е.В.Кислицина, В.Г.Германчук, М.В.Гордеева

ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация

На протяжении многих лет проведение исследований с использованием лабораторных животных является базовым для научных экспериментов и залогом прогресса медико-биологических наук. До настоящего времени биологический метод (метод биологических проб) остается золотым стандартом диагностики возбудителей инфекционных болезней. Лабораторных животных также широко применяют для оценки качества и безопасности различных продуктов, в т.ч. и медицинских изделий, используемых для профилактики и лечения инфекционных болезней. Все перечисленные работы: экспериментальные, диагностические, производственные, так или иначе могут быть связаны с рисками использования патогенных биологических агентов (ПБА), что обуславливает необходимость обеспечения биологической безопасности при их проведении. Особенно важно обеспечение биобезопасности при работе с лабораторными животными, зараженными возбудителями особо опасных инфекций. При приоритетном выполнении комплекса мер, направленных на минимизацию биориска, особенностью использования лабораторных животных является также выполнение комплекса мер, направленных на снижение рисков искажения экспериментальных данных.

Биологическая безопасность в лаборатории обеспечивается выполнением комплекса организационных, инженерно-технических, медико-биологических и контрольных мероприятий, направленных на защиту персонала и окружающей среды от воздействия ПБА. При использовании лабораторных животных объем защитных мероприятий расширяется, так как инфицированные животные становятся дополнительным источником биологической опасности. Ведущими факторами обеспечения биобезопасности являются «технический» и «человеческий». Уровень защиты лаборатории, где содержатся и ведутся работы с инфицированными животными, должен быть адекватен потенциальной биологической опасности. Немаловажную роль играет компетентность персонала - как обслуживающего, так и экспериментатора.

Минимизация биорисков обеспечивается строгой системой регулирования. На сегодняшний день основными документами Российской Федерации, регулирующими безопасность проведения работ с возбудителями инфекций, являются СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», а также методические документы и инструкции, касающиеся вопросов обеспечения безопасности при выполнении работ с ПБА. Соблюдение правил и норм биобезопасности с учетом особенностей обращения с животными, касающихся выполнения этических норм и ветеринарного наблюдения, позволяет минимизировать биориск при работе с зараженными лабораторными животными и при этом грамотно планировать исследования с получением достоверных качественных результатов.

Ключевые слова: лабораторные животные, инфицированные лабораторные животные, биомодель, биологический риск, патогенные биологические агенты, персонал, виварий, лаборатория

Для цитирования: Кислицина Е.В., Германчук В.Г., Гордеева М.В. Минимизация биориска при обращении с инфицированными лабораторными животными. Бактериология. 2026; 11(1): 103–111. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-103-111

Minimizing biorisk when handling infected laboratory animals

E.V.Kislitsina, V.G.Germanchuk, M.V.Gordeeva

Russian Anti-Plague Research Institute “Microbe” of Rosпотребнадзор, Saratov, Russian Federation

For many years, research using laboratory animals has been a fundamental part of scientific experiments and has contributed to the advancement of biomedical sciences. To this day, the biological method (biological testing) remains the “gold standard” for diagnosing infectious diseases. Laboratory animals are also widely used to assess the quality and safety of various products, including medical devices used for the prevention and treatment of infectious diseases. All of the above-mentioned activities, such as experimental, diagnostic, and production activities, may involve the use of pathogenic biological agents (PBA), which necessitates the implementation of biosecurity measures. It is especially important to ensure biosafety when working with laboratory animals that are infected with pathogens of particularly dangerous infections. In addition to prioritizing a set of measures aimed at minimizing biorisk, the use of laboratory animals also requires a set of measures aimed at reducing the risks of distortion of experimental data.

Для корреспонденции:

Кислицина Екатерина Владимировна, научный сотрудник отдела экспериментальных животных с виварием ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора

Адрес: 410005, Саратов, ул. Университетская, 46

Телефон: (8452) 26-2131

E-mail: rusrapi@microbe.ru

ORCID: 0000-0002-7565-2383

Статья поступила 18.11.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Ekaterina V. Kislitsina, Research Fellow at the Department of Experimental Animals with Vivarium, Russian Scientific Research Anti-Plague Institute “Microbe” of Rosпотребнадзор

Address: 46 Universitetskaya str., Saratov, 410005, Russian Federation

Phone: (8452) 26-2131

E-mail: rusrapi@microbe.ru

ORCID: 0000-0002-7565-2383

The article was received 18.11.2025, accepted for publication 30.03.2026

Biological safety in the laboratory is ensured by a set of organizational, engineering, medical, biological, and control measures aimed at protecting personnel and the environment from the effects of PBA. When using laboratory animals, the scope of protective measures expands, as infected animals become an additional source of biological hazard. The leading factors in ensuring biological safety are “technical” and “human.” The level of protection in a laboratory where infected animals are kept and worked with must be adequate to the potential biological hazard. The competence of both the maintenance staff and the experimentalists plays an important role.

Minimization of bioresources is ensured by a strict regulatory system. To date, the main document of the Russian Federation regulating the safety of work with infectious agents is SanPiN 3.3686-21 “Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases”, as well as methodological documents and instructions concerning the issues of ensuring safety when performing work with PBA.

Compliance with the rules and regulations of biosafety, taking into account the specifics of animal handling, including ethical standards and veterinary supervision, allows to minimize the bioresistance when working with infected laboratory animals and at the same time to plan the research in a competent way with obtaining reliable quality results.

Key words: laboratory animals, infected laboratory animals, biomodel, biological risk, pathogenic biological agents, personnel, vivarium, laboratory

For citation: Kislitsina E.V., Germanchuk V.G., Gordeeva M.V. Minimizing biorisk when handling infected laboratory animals. Bacteriology. 2026; 11(1): 103–111. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-103-111

Важную роль в научных и диагностических исследованиях, а также в производственной работе играет использование лабораторных животных. Животных использовали на протяжении всей истории науки, и в настоящем это, бесспорно, остается обязательным. По данным Европейского союза, основная часть животных (65%) используется в медицинских исследованиях и использование лабораторных животных неуклонно растет [1]. Для исследований выбирают виды животных, наиболее близкие человеку в плане физиологии и патофизиологии. Выбор животного всецело зависит от поставленных задач эксперимента [2].

Залог успешного проведения эксперимента с использованием лабораторных животных – это выбор соответствующих определенным критериям сотрудников, при этом определяется их количество, достаточное как для проведения самого эксперимента, так и для обслуживания содержащихся лабораторных животных, а также заранее составленная схема эксперимента, которая должна выполняться в четкой последовательности и строго распределенными функциями экспериментаторов [3].

При обращении с инфицированными лабораторными животными требуются понимание и исполнение требований биологической безопасности (ББ) для предотвращения заражения персонала и контаминации окружающей среды, а также соблюдение этических норм [4] и ветеринарный контроль сертифицированного специалиста за состоянием животных, условиями их содержания. Неправильное обращение приводит не только к страданиям животного, но и к искажению научных данных. Стресс является мощным фактором, влияющим на ход эксперимента и его результат [5]. Поэтому обеспечивается адекватная анестезия и анальгезия, соблюдение асептики и антисептики при проведении хирургических операций. Необходимо четко определить критерии, при которых животное должно быть безболезненно подвергнуто эвтаназии, с использованием только одобренных и гуманных методов, которые вызывают быструю и безболезненную смерть, во избежание непреднамеренных страданий [6].

Таким образом, при приоритетном выполнении комплекса мер, направленных на минимизацию биориска при обращении с инфицированными животными, необходимо совокупно обеспечивать выполнение мероприятий, направленных на

снижение рисков искажения экспериментальных данных, в т.ч. учитывая и этический аспект.

Цель исследования – провести анализ наиболее важных нормативных, методических документов, литературных данных, а также ведомственных документов по обеспечению биологической безопасности при обращении с инфицированными лабораторными животными.

Материал и методы

Для проведения анализа отобраны нормативные, методические документы и научные публикации по поисковым электронным базам данных (PubMed, eLIBRARY). В соответствии с темой работы в исследование включено 27 источников.

Результаты исследования и их обсуждение

Риск заражения при лабораторных исследованиях с использованием биологического метода является преобладающим среди остальных рисков, связанных с работами с патогенными биологическими агентами (ПБА). При обращении с лабораторными животными наиболее часто происходит нарушение кожных покровов экспериментатора вследствие укусов, царапин, нанесенных инфицированным животным, а также укола зараженной иглой, пореза хирургическими инструментами при вскрытии. Аварии при работе с ПБА, связанные с нарушением целостности кожных покровов, наиболее часто являются очевидной причиной лабораторного заражения [7, 8]. Заражение внутри лаборатории, где содержатся инфицированные лабораторные животные, также может произойти воздушно-капельным, контактным или даже трансмиссивным (через укус насекомых) путем. Поэтому риск лабораторного инфицирования персонала и попадания опасных биоагентов во внешнюю среду потенциально связаны с условиями содержания зараженных животных и правилами обращения с ними [9].

Для минимизации биориска выполняется комплекс организационных, инженерно-технических, медико-биологических и контрольных мероприятий [10].

Наиболее эффективно воздействие на биориск путем реализации инженерно-технических мероприятий – исполь-

зованием защитных инженерно-технических систем и оборудования, вспомогательных средств и инструментария, так как «технический» фактор содержит в себе меньшую неопределенность и легче поддается контролю и управлению, чем «человеческий» [11].

Одним из эффективных механизмов управления биориском является государственное регулирование, нормативное и методическое обеспечение ББ.

На сегодняшний день основным документом Российской Федерации, регулирующим безопасность проведения работ с возбудителями инфекций, является СанПиН 3.3686-21 [12]. Документ устанавливает общие базовые требования к условиям работ с ПБА с использованием лабораторных животных (содержание, заражение и вскрытие инфицированных животных).

Реализация организационных и контрольных мероприятий в области ББ при проведении работ с ПБА с использованием биомоделей обеспечивается аналогично любой другой деятельности с использованием возбудителей инфекционных болезней. Проведение исследований с использованием лабораторных животных подлежит лицензированию [13], а подразделение проводит работы на основании санитарно-эпидемиологического заключения о соответствии условий проведения работ с ПБА, выданного в установленном порядке [12]. В организации осуществляется контроль за соблюдением требований ББ. Для подразделения, на базе которого проводят исследования с использованием лабораторных животных, важно учесть все регулируемые нормативами биориски, а также дополнительно оценить риски, связанные с конкретными условиями содержания и обращения с животными, видом и количеством используемых животных, оборудованием, персоналом, особенностями технологии. Меры по снижению выявленных рисков отражают в локальных нормативных актах подразделения по ББ, планах ликвидации аварий, стандартных операционных процедурах (СОП) [12]. Особенностью учета движения ПБА при постановке биопроб является регистрация движения лабораторных животных – поступивших для исследования, инфицированных или иммунизированных, с учетом заражающего материала, вида животного, количества экспериментальных животных на начало и конец рабочего дня (смены), включая количество зараженных, павших или забитых. Регистрации подлежат заражение, вскрытие и другие манипуляции с указанием фамилии, имени, отчества и должности экспериментатора, времени проведения эксперимента. Это позволяет снизить риски, связанные с утратой ПБА (преднамеренной или непреднамеренной) [14].

Минимизация биориска с помощью «технического» фактора обеспечивается созданием физических барьеров, препятствующих заражению персонала и распространению возбудителей инфекционных болезней во внешнюю среду [11]. При обращении с инфицированными животными в лабораторных условиях учитывают размещение как самого объекта, так непосредственно помещений подразделения, проводящего исследования с использованием биомоделей, в объеме здания, а также объемно-планировочные решения (ОПР), оснащение комплексом инженерно-технических систем ББ (ИТС ББ), оборудованием и средствами, направ-

ленными на защиту работающего персонала, населения и окружающей среды от воздействия ПБА [12].

Для снижения потенциального биориска для населения и окружающей среды размещение подобных объектов осуществляют с соблюдением требований к санитарно-защитной зоне в соответствии с национальным законодательством [15].

СанПиН 3.3686-21 устанавливает ряд основных требований к размещению лабораторий в здании, ОПР, комплексу ИТС ББ и защитного оборудования в соответствии с уровнем ББ лаборатории. Однако российские нормативные требования к ОПР и элементам ИТС ББ при работе с лабораторными животными недостаточно конкретизированы в зависимости от уровня ББ лаборатории, потенциальной опасности возбудителя. При этом руководства по обеспечению ББ в лабораторных условиях Центра по контролю заболеваний США, Канады выделяют и дифференцируют рекомендации по обеспечению ББ для лабораторий, проводящих исследования с использованием лабораторных животных, в соответствии с уровнем ББ лаборатории и биологической опасностью ПБА [16]. Это несомненно является преимуществом при проектировании лабораторий, планировании и организации безопасной работы.

Исследования с использованием лабораторных животных проводят в различном объеме в организациях различной функциональной направленности и ведомственной подчиненности.

Имеются специализированные экспериментально-биологические клиники (виварии), где осуществляется содержание и разведение лабораторных животных, используемых для научных и иных целей, а также обеспечиваются физиологические потребности животных [17–19]. Для части учреждений, например для учреждений системы мониторинга и лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней (Приказ Роспотребнадзора от 01.12.2017 №1116 «О совершенствовании системы мониторинга, лабораторной диагностики инфекционных и паразитарных болезней и индикации ПБА в Российской Федерации»), спектр задач не включает содержание и разведение животных, а также проведение полномасштабных длительных экспериментов с ними, а локализуется использованием ограниченного количества биомоделей исключительно для диагностических исследований, проводимых в течение короткого периода времени в случае необходимости [20]. При необходимости постановки биопроб лабораторных животных приобретают в специализированных питомниках (вивариях) в необходимом количестве. Поэтому необходим дифференцированный подход к созданию необходимых условий для содержания животных и проведению работ с ПБА с их использованием в учреждениях с различным целевым назначением [21].

С 2014 по 2021 г. до вступления в действие СанПиН 3.3686-21 санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию, содержанию животных и проведению работ в виварии, направленные как на защиту лабораторных животных от неблагоприятных воздействий, так и на защиту персонала вивария от вредных и опасных производственных факторов, устанавливали санитарно-эпидемиологические правила СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудова-

нию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)». Часть требований, а именно к размещению и устройству вивариев, включена в СанПиН 3.3686-21.

СанПиН 3.3686-21 определяет, что в набор помещений микробиологической лаборатории, при необходимости, входит блок для работы с инфицированными животными, но не устанавливает требований к наличию вивария в лаборатории. При этом не исключено, что виварий может включать блок для работы с инфицированными животными. В то же время по определению, назначению и функциям блок для содержания инфицированных животных микробиологической лаборатории не является комплексом помещений вивария, т.е. не должен включать регламентированный набор виварных помещений, а представляет собой подразделение микробиологической лаборатории, использующей лабораторных животных для постановки биопроб. Таким образом, блок для работы с инфицированными животными является обязательной структурно-функциональной единицей, предназначенной для проведения работ с ПБА с использованием лабораторных животных как в виварии, так и в микробиологической лаборатории [21].

Приоритетом при работе с инфицированными лабораторными животными в лаборатории является соблюдение требований ББ, направленных на предотвращение профессионально обусловленного инфицирования персонала [22], эпидемического распространения среди людей и попадания в окружающую среду. С учетом этого проводят проектирование учреждений с зонированием на «чистую» (где не проводят работы с ПБА) и «заразную» (где проводят работы с ПБА) зоны. В этом заключается противовес требований при работе с ПБА к требованиям ОНР вивария, где разделение идет на «чистые» и «грязные» помещения с целью обеспечения безопасности лабораторных животных, направленной на предотвращение их заражения, источником которого являются вновь поступившие животные, материалы и оборудование, использовавшиеся при обращении с заболевшими животными, персонал вивария. Однако, с учетом необходимости совокупного выполнения требований, блок для работы с инфицированными животными вивария должен располагаться в «грязных» помещениях «заразной» зоны.

Объемно-планировочные решения и размещение оборудования в учреждении и подразделении, где проводят работы с лабораторными животными, должны обеспечивать поточность движения не только ПБА, персонала, отходов, но и лабораторных животных. Поточность рассматривают как в отношении профилактики инфицирования от персонала и объектов окружающей среды при поступлении интактных животных для исследований, так и после инфицирования с целью обеспечения ББ [21].

Если цели и задачи учреждения не предусматривают наличие вивария, то приобретаемые животные проходят отбор и сортировку (вид, вес, состояние здоровья и др.) в специальном помещении «чистой» зоны и далее поступают в «заразную» зону – в блок для работы с инфицированными животными для постановки биопробы. В помещениях для временного пребывания животных до и во время эксперимента («чистой» и «заразной» зон) создают оптимальные климатические и санитарно-гигиенические условия, обеспе-

чивают кормление и уход, что обусловлено требованиями к гуманному отношению к животным [23].

Минимальный набор помещений блока для работы с инфицированными животными не нормирован действующими СанПиН. Однако существующий опыт работ и анализ литературных источников позволяет сделать вывод, что блок для работы с инфицированными животными должен включать следующие помещения: 1) помещение для надевания средств индивидуальной защиты (СИЗ); 2) помещение для снятия и обеззараживания СИЗ; 3) манипуляционная (полевая) – помещение для приема, разбора материала и очеса животных, доставленных из природных очагов; 4) помещение для первичной подготовки проб зоолого-энтмологического материала; 5) помещение для первичной подготовки секционного материала; 6) помещение для заражения/вскрытия животных, инфицированных ПБА I–IV групп; 7) помещение для лечения животных, инфицированных ПБА I–IV групп; 8) биопробная – помещение для содержания зараженных животных (животные, зараженные разными видами микроорганизмов, подлежат отдельному содержанию); 9) помещение для обеззараживания оборудования и инвентаря химическим способом; 10) помещение для мойки оборудования и инвентаря; 11) помещение для хранения оборудования и инвентаря. Допускается объединение помещения для мойки и хранения оборудования и инвентаря. В существующих лабораториях допускается объединение помещений: манипуляционная (полевая); помещение для первичной подготовки проб зоолого-энтмологического материала; помещение для первичной подготовки секционного материала; помещение для заражения/вскрытия животных, инфицированных ПБА I–IV групп. Возможно выделение отдельных помещений в составе блока для работы с материалом, подозрительным на содержание микроорганизмов, образующих споры, для иммунизации и содержания иммунизированных животных, а также других помещений, исходя из конкретных целей и задач лаборатории. Начиная с уровня ББ 3 рекомендуется наличие в подразделении, где расположен блок для работы с инфицированными животными, помещения для обеззараживания паровой стерилизацией. При наличии проходного парового стерилизатора – в «заразной» зоне подразделения выделяют помещение (зону) для загрузки объектов, инфицированных ПБА, в паровой стерилизатор.

В составе помещений «чистой» зоны вновь строящихся и реконструируемых лабораторий, проводящих исследования с использованием биомоделей, предусматриваются: 1) помещение для приема, адаптации поступивших интактных животных; 2) помещение для хранения чистого инвентаря (клеток, поилок, посуды для кормов, оборудования); 3) помещения для хранения и приготовления кормов для животных; 4) помещение для хранения подстилки для животных; 5) моечная; 6) помещение для выгрузки материала после обеззараживания способом паровой стерилизации; 7) помещения персонала.

Заражающий материал может в подготовленном виде передаваться непосредственно к месту проведения заражения животных или готовиться на месте, например суспензии из органов вскрытых животных без выноса из помещений «заразной зоны» [24].

При обустройстве блока для работы с инфицированными животными соблюдают принцип изоляции. Это достигается его изолированным расположением от других помещений, оборудованием автономной вентиляцией с режимами работы и наличием фильтров очистки воздуха, регламентированными СанПиН 3.3686-21 в зависимости от уровня ББ и потенциальной опасности возбудителя [26].

Во избежание заражения персонала и контаминации окружающей среды на современном этапе лаборатории используют барьерный тип содержания экспериментальных животных. Это система, которая обеспечивает изоляцию животных от окружающей среды с помощью специализированного оборудования с созданием разряжения внутри устройств для предотвращения попадания патогенов в окружающую среду. С данной целью возможно использование защитных устройств для содержания животных, инфицированных ПБА I–IV групп: системы индивидуально вентилируемых клеток и шкафов содержания лабораторных животных с комбинированной фильтрацией удаляемого воздуха [25]. Предпочтительно использование индивидуально вентилируемых клеток, так как обеспечивается изоляция инфицированного животного или группы животных, подстилочного материала и продуктов жизнедеятельности, воздуха, а также поддерживается оптимальный микроклимат на уровне каждой клетки [27]. При использовании шкафов, где изоляция обеспечивается в основном на уровне общего внутреннего пространства защитного устройства, существует вероятность выброса инфицированного материала из клеток, контейнеров и загрязнение внутренней камеры шкафа [22].

Действующие санитарные правила СанПиН 3.3686-21 допускают содержание зараженных животных в банках, металлических клетках при условии, что помещение оснащено автономной системой приточно-вытяжной вентиляции с высокоэффективными фильтрами очистки воздуха соответствующего уровню класса биобезопасности на входе и на выходе, с непрерывным поддержанием регламентированных режимов работы (отрицательного давления, кратности воздухообмена) круглосуточно, тем самым понижая концентрацию микробного аэрозоля в помещении и снижая риск заражения для персонала и попадания ПБА в окружающую среду.

Системы содержания лабораторных животных, кроме снижения биорисков, также предусматривают создание и поддержание определенных параметров микроклимата, возможность кормления, соблюдения питьевого режима, наблюдения за животными. Сотрудники контролируют не только внешний вид, но и активность животного, в т.ч. поедание корма и употребление питьевой воды [21].

Для минимизации биориска набор заражающего материала и заражение лабораторных животных ПБА I–II групп, а также их вскрытие проводят с использованием защитного оборудования. В основном используют бокс микробиологической безопасности II или III класса, предпочтительно с возможностью расположения сотрудников, проводящих манипуляции, друг против друга (модификация *vis-a-vis*). Допускается также использование иного оборудования, способствующего ограничению распространения микробного аэрозоля в помещении, – защитных боксирующих

устройств (ЗБУ) или ламинарной станции с двухсторонним доступом [25]. Предпочтительно использование ЗБУ с подключением к вытяжной вентиляции, оборудованной высокоэффективными фильтрами очистки воздуха соответствующего класса. При работе с инфицированными животными возможно использование ламинарных станций различных модификаций – для чистки клеток и пересадки животных, для чистки клеток и ухода за животными, что функционально облегчает проведение манипуляций, тем самым снижая биориск, обусловленный физической нагрузкой на персонал. Ламинарные станции не являются защитным оборудованием как таковым, но направленный сверху вниз ламинарный поток воздуха создает некоторый защитный барьер для сотрудника и препятствует распространению микробного аэрозоля [26]. Кроме того, создание «чистых» условий снижает повышенную микробную нагрузку на биомодель, что способствует чистоте эксперимента. Выбор проведения подобных манипуляций на лабораторном столе над емкостью (поддоном) со смоченной салфеткой в дезинфицирующем растворе допускается в ограниченных случаях и должен сопровождаться использованием СИЗ с более высоким коэффициентом защиты. Риск выполнения манипуляций должен быть тщательно оценен комиссионно на объектовом уровне, и при его принятии все условия и этапы выполнения должны быть отражены в объектовой инструкции или СОП.

Работы в блоке для проведения работ с инфицированными животными проводят в СИЗ – противочумном костюме или аналоге, тип которого определяется биологической опасностью возбудителя и проводимыми манипуляциями. Проведение работ с инфицированными животными также определяет особенности в выборе СИЗ. Противочумный костюм или аналог рекомендуется выбирать с учетом повышенного риска образования брызг и высоких концентраций микробного аэрозоля, а также нанесения травм животным. Выбирают противочумные халаты или комбинезоны, выполненные из водоотталкивающих материалов, либо с усиленной водоотталкивающей передней поверхностью, либо дополняемые фартуком из водоотталкивающего материала. Также рекомендовано использование медицинских перчаток с защитой от проколов и порезов, либо кольчужных перчаток, либо дополненных крагами. Краги в данном случае должны быть выполнены из материала, устойчивого к обработке дезинфицирующими средствами. Учитывая, что манипуляции по уходу за лабораторными животными, проведению экспериментов сопряжены с повышенной физической активностью, сопровождающейся повышенным теплоотделением, целесообразно в условиях для базовых и изолированных лабораторий использовать фильтрующее СИЗ органов дыхания с принудительной подачей воздуха в комплекте с шлемом или капюшоном [28].

Однако выполнение всех инженерно-технических мер по снижению биориска сводится к минимуму без учета «человеческого» фактора, который является определяющим как в обеспечении ББ, так и в получении достоверных экспериментальных данных при использовании лабораторных животных.

Воздействие «человеческого» фактора на минимизацию биориска при обращении с инфицированными животными обеспечивается комплексным подходом к допуску персона-

ла [29]. Кроме выполнения общих требований к допуску работ с ПБА различных групп патогенности, регламентированных СанПиН, включая обучение и медико-профилактические мероприятия, необходимо наличие специальных практических навыков и сформировавшейся культуры ББ [30, 31].

Персонал должен владеть методиками безопасной техники выполнения различных манипуляций с инфицированными животными – заражения, вскрытия, взятия биоматериала и техники посева, ухода и содержания, лечения и эвтаназии, проведения обеззараживания и удаления отходов. Поэтому так важно для минимизации биориска при проведении исследований с ПБА с использованием биомоделей методическое обеспечение безопасного выполнения данных манипуляций. Методическая база обеспечения ББ должна дополнять и раскрывать требования нормативов, детализировать выполнение базовых требований на уровне комплекса методических документов – указаний, рекомендаций, руководств, а также являться унифицированной основой обучающего процесса.

Экспериментатор при заражении лабораторного животного должен четко понимать и учитывать индивидуальные особенности животного (дикие грызуны, лабораторные крысы), степень их агрессивности, его реакцию (поведение) на данную манипуляцию. Отсутствие опыта у сотрудников повышает потенциальный биориск, так как может привести к возникновению аварийных ситуаций, в результате чего животное во время заражения или зараженное животное может повредить СИЗ, укусить экспериментатора, а также совершить побег. Не имеющим опыт работы с лабораторными животными сотрудникам перед началом работ или при освоении новых методик следует проходить практику на «чистых» животных [24].

Соблюдение ББ является основой для работы сотрудников во время заражения и последующего наблюдения, а также ухода за зараженными лабораторными животными. Совершенно недопустимо намеренное нарушение режима безопасности работы или его сокрытие. Обязательным условием при работе и уходе за инфицированными лабораторными животными, находящимися в эксперименте, является соблюдение принципа парности.

Завершающим этапом всех процедур с использованием инфицированных биомоделей является обеззараживание всех задействованных предметов, инструментов, оборудования и СИЗ. Уход за лабораторными животными осуществляется ежедневно сотрудниками имеющие допуск к работе с ПБА. В процессе ухода за животными остаются остатки корма, питьевой воды, продукты жизнедеятельности зараженных ПБА лабораторных животных, клетки, а также вышедшие из эксперимента животные [24], которые проходят обязательное обеззараживание химическими и физическими методами согласно действующим санитарным правилам.

Заключение

Таким образом, в результате анализа имеющихся источников информации и многолетнего опыта работы с лабораторными животными выделены основные механизмы и под-

ходы к минимизации биориска при работе с возбудителями инфекционных болезней с использованием лабораторных животных. Воздействие на биориск осуществляется комплексом мероприятий, включающим выполнение нормативных требований по безопасности работ с ПБА с использованием биомоделей, а также реализацией дополнительных мер, связанных непосредственно с правилами обращения с животными. Итогом тщательного мониторинга и анализа потенциальных рисков обращения с инфицированными животными должна явится детализация и унификация нормативных требований в методических и инструктивных документах. Минимизация биориска при работе с инфицированными лабораторными животными должна учитывать также такие аспекты, как гуманное обращение с животными и влияние условий обращения с лабораторными животными на результат исследования. Только такой подход позволяет проводить безопасные, качественные, воспроизводимые и морально оправданные научные исследования.

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 interest

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. Рекомендация Коллегии ЕЭК от 14.11.2023 №33 «О Руководстве по работе с лабораторными (экспериментальными) животными при проведении доклинических (неклинических) исследований». Таможенные документы. АлтаСофт [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.alta.ru/tamdoc/23rk0033/?ysclid=mkmgp1uhk4121009412> (дата обращения: 20.01.2026).
2. Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях ETS N 123 (Страсбург, 18 марта 1986 г.). ГАРАНТ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://base.garant.ru/4090914/?ysclid=mkmgvs3cds423989208> (дата обращения: 20.01.2026).
3. Каркищенко НН, Грачева СВ. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. М.: Профиль-2с, 2010.
4. Курзанов АН. Биоэтические аспекты исследовательской и образовательной деятельности в медицинских НИИ и вузах. Фундаментальные исследования. 2009;2:92-3.

5. Grimm H, Biller-Andorno N, Buch T, Dahloff M, Davies G, Cederroth CR, et al. Advancing the 3Rs: innovation, implementation, ethics and society. *Front Vet Sci*. 2023 Jun 15;10:1185706. DOI: 10.3389/fvets.2023.1185706
6. ГОСТ ISO 10993-2-2025 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 2. Требования к обращению с животными – docs.cntd.ru [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1313168870?ysclid=mkkxrbjjga361679000> (дата обращения: 19.01.2026).
7. Крепостнова ИМ, Гордеева МВ. Аварии в лабораториях, осуществляющих работы с патогенными биологическими агентами. Проблемы особо опасных инфекций. 2024;3:25-34. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-3-25-34.
8. Blacksell SD, Dhawan S, Kusumoto M, Le KK, Summermatter K, O'Keefe J, et al. Laboratory-acquired infections and pathogen escapes worldwide between 2000 and 2021: a scoping review. *Lancet Microbe*. 2024 Feb;5(2):e194-e202. DOI: 10.1016/S2666-5247(23)00319-1
9. Кислицина ЕВ, Германчук ВГ. Особенности содержания лабораторных животных, инфицированных патогенными биологическими агентами I–II группы, находящихся в эксперименте. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2024;2:90-97. DOI: 10.57034/2618723X-2024-02-08
10. ГОСТ Р 55234.2 – 2013 Практические аспекты менеджмента риска Менеджмент биориска; Биологическая безопасность: Термины и определения. Под ред. Онищенко ГГ, Кутырева ВВ. Изд. 2-е, испр. и доп. М.: Медицина, 2011.
11. Дроздов СГ, Гарин НС, Джиндоян ЛС, Тарасенко ВМ. Основы техники безопасности в микробиологических и вирусологических лабораториях. М.: Медицина, 1987.
12. СанПиН 3.3686-21. Санитарные правила и нормы. Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней. Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28.01.2021 №4 (ред. от 25.06.2025) «Об утверждении санитарных правил и норм СанПиН 3.3686-21». Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней (вместе с СанПиН 3.3686-21. Санитарные правила и нормы...) (Зарегистрировано в Минюсте России 15.02.2021 №62500) [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://sudact.ru/law/postanovlenie-glavnogo-gosudarstvennogo-sanitarnogo-vracha-rf-ot_1377/sanpin-3.3686-21/?ysclid=mkmbuq3d85591386968 (дата обращения: 20.01.2026).
13. Постановление Правительства РФ от 25 января 2022 г. №46 «О лицензировании деятельности в области использования возбудителей инфекционных заболеваний человека и животных (за исключением случая, если указанная деятельность осуществляется в медицинских целях) и генно-инженерно-модифицированных организмов III и IV степеней потенциальной опасности, осуществляемой в замкнутых системах». Документы ленты ПРАЙМ: ГАРАНТ. РУ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/403357492/?ysclid=mkmc8rzhd5937848561> (дата обращения: 20.01.2026).
14. Laboratory biosecurity guidance. World Health Organization, 2024. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240095113>
15. Постановление Правительства РФ от 03.03.2018 №222 «Об утверждении Правил установления санитарно-защитных зон и использования земельных участков, расположенных в границах санитарно-защитных зон» (с изменениями и дополнениями)». ГАРАНТ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://base.garant.ru/71892700/?ysclid=mkmcprvfrfs393202079> (дата обращения: 20.01.2026).
16. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 6th edition. Revised June 2020. CDC, Canadian Biosafety Standard [Канадский стандарт по биобезопасности]. Third Edition. 2022. Available at: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/canadian-biosafety-standards-guidelines/third-edition.html>
17. FELASA working group on revision of guidelines for health monitoring of rodents and rabbits; Mähler Convenor M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen Wilcke B, Pritchett-Corning K, et al. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Lab Anim*. 2014 Jul;48(3):178-192. DOI: 10.1177/0023677213516312
18. ГОСТ Р 55634-2013. Услуги для непродуктивных животных. Общие требования к объектам ветеринарной деятельности (Издание с Поправкой) – docs.cntd.ru [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200104952> (дата обращения: 19.01.2026).
19. Большая медицинская энциклопедия. Главн. ред. Петровский БВ. Изд. 3-е [в 30 т.]. М.: Сов. энциклопедия. 1976;4:188-190.
20. Директива Европейского парламента и Совета Европейского Союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей. ГАРАНТ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://base.garant.ru/70350564/?ysclid=mkmiyijpn3844077600> (дата обращения: 20.01.2026).
21. Германчук ВГ, Кислицина ЕВ, Шавина НЮ. Технические и проектные особенности специализированных лабораторий для работы с инфицированными животными. *Здоровье населения и среда обитания*. 2021;29(12):87-92. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-12-87-92
22. Германчук ВГ, Морозов КМ, Семакова АП, Шавина НЮ. Обеспечение биологической безопасности в лаборатории для работы с зараженными животными. *Здоровье населения и среда обитания*. 2016;12(285):44-48.
23. ГОСТ 33216-2014. Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами (Переиздание) – docs.cntd.ru [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200127506> (дата обращения: 19.01.2026).
24. Кислицина ЕВ, Германчук ВГ, Гордеева МВ, Малюкова ТА, Сазанова ЕВ. Основные аспекты заражения лабораторных животных патогенными биологическими агентами I–II групп в соответствии с требованиями биологической безопасности. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025;(3):49-56. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-49-56
25. Методические рекомендации. МР 1.3.0383-25 по использованию боксов микробиологической безопасности и других защитных устройств для работы и содержания животных, инфицированных ПБА I–IV групп (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 21 июля 2025 г.). ГАРАНТ [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://base.garant.ru/412408692/?ysclid=mkmfajh6b460571113> (дата обращения: 20.01.2026).
26. Шишкина ОБ, Тюрин ЕА. Комплексное использование систем вентиляции, кондиционирования воздуха и боксов биологической безопасности для обеспечения санитарно-гигиенических условий в микробиологических лабораториях. *Актуальные проблемы общей и военной гигиены: материалы Всероссийской научно-практической конференции*. СПб., 2011;106-107.
27. Тращенко Д, Ковалева М. Индивидуально вентилируемые клетки – лишние финансовые вложения или оптимальная защита персонала и лабораторных животных. *Международный вестник ветеринарии*. 2014;1:100-103.
28. Пчелинцева МВ, Костюкова ТА, Ляпин МН, Семакова АП, Шарова ИН. Оценка возможности использования средства индивидуальной защиты при работе с возбудителями инфекционных болезней. В сборнике: Обеспечение эпидемиологического благополучия: вызовы и решения. *Материалы XI съезда Всероссийского научно-практического общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов*. 2017;487-488.
29. Тюрин ЕА, Благодатских СА, Квочко ПС. Оценка состояния профессиональной подготовки для снижения биологических рисков у сотрудников ветеринарных испытательных лабораторий. *Бактериология*. 2023;8(2):79-82. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-2-79-82
30. ГОСТ Р 55234.4-2014. Практические аспекты менеджмента риска. Требования к персоналу для снижения биориска – docs.cntd.ru [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://docs.cntd.ru/document/1200114208> (дата обращения: 19.01.2026).

31. Kojima K, Bennett A, Blacksell S, Heisz M, Makison Booth C, McKinney M, et al. Laboratory Biosafety Manual. 4th ed. Geneva: World Health Organization; 2020;124. DOI: 10.48350/150305

References

1. Recommendation of the EEC Board of 14.11.2023 No 33 “On the Guidelines for Working with Laboratory (Experimental) Animals during Preclinical (Non-Clinical) Studies”. Customs documents I Alta-Soft [Electronic resource]. Available at: <https://www.alta.ru/tamdoc/23rk0033/?ysclid=mkmgp1uhk4121009412> (accessed 20.01.2026). (In Russian).
2. European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes ETS No 123 (Strasbourg, 18 March 1986). GARANT [Electronic resource]. Available at: <https://base.garant.ru/4090914/?ysclid=mkmgvs3cds423989208> (accessed 20.01.2026). (In Russian).
3. Karkishchenko NN, Gracheva SV. Handbook of laboratory animals and alternative models in biomedical technologies. M.: Profile-2s Publishing House, 2010. (In Russian).
4. Kurzanov AN. Bioethical aspects of research and educational activities in medical research institutes and universities. Fundamental Research. 2009;2:92-93. (In Russian).
5. Grimm H, Biller-Andorno N, Buch T, Dahlhoff M, Davies G, Cederroth CR, et al. Advancing the 3Rs: innovation, implementation, ethics and society. Front Vet Sci. 2023 Jun 15;10:1185706. DOI: 10.3389/fvets.2023.1185706
6. GOST ISO 10993-2-2025. Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 2. Requirements for handling animals – docs.cntd.ru [Electronic resource]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1313168870?ysclid=mkxrbjiga361679000> (accessed 19.01.2026). (In Russian).
7. Krepostnova IM, Gordeeva MV. Accidents in laboratories working with pathogenic biological agents. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2024;3:25-34. DOI: 10.21055V0370-1069-2024-3-25-34 (In Russian).
8. Blacksell SD, Dhawan S, Kusumoto M, Le KK, Summermatter K, O’Keefe J, et al. Laboratory-acquired infections and pathogen escapes worldwide between 2000 and 2021: a scoping review. Lancet Microbe. 2024 Feb;5(2):e194-e202. DOI: 10.1016/S2666-5247(23)00319-1
9. Kislitsina EV, Germanchuk VG. Features of keeping laboratory animals infected with pathogenic biological agents, pathogenicity group i-ii, under experiment. Laboratory Animals for Science. 2024;2:90-97. DOI: 10.57034/2618723X-2024-02-08 (In Russian).
10. GOST R 55234.2 – 2013 Practical aspects of risk management Biorisk management; Biological safety: Terms and definitions. Edited by Onishchenko GG, Kutyrev VV. 2nd edition, corr. and add. M.: Medicine, 2011. (In Russian).
11. Drozdov SG, Garin NS, Dzhindoyan LS, Tarasenko VM. Fundamentals of safety engineering in microbiological and virological laboratories. M.: Medicine, 1987. (In Russian).
12. SanPiN 3.3686-21. Sanitary rules and regulations Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases Resolution of the Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation of 01/28/2021 N 4 (as amended on 06/25/2025) On approval of sanitary rules and regulations SanPiN 3.3686-21 Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases (together with SanPiN 3.3686-21. Sanitary rules and regulations...) (Registered with the Ministry of Justice of Russia on 02/15/2021 N 62500) [Electronic resource]. Available at: https://sudact.ru/law/postanovlenie-glavnogo-gosudarstvennogo-sanitarnogo-vracha-rf-ot_1377/sanpin-3.3686-21/?ysclid=mkmbuq3d85591386968 (accessed 20.01.2026). (In Russian).
13. Resolution of the Government of the Russian Federation of January 25, 2022 No 46 “On licensing activities in the field of using pathogens of infectious diseases of humans and animals (except for the case when the said activity is carried out for medical purposes) and genetically modified organisms of III and IV degrees of potential danger, carried out in closed systems”. Documents of the PRIME feed: GARANT.RU [Electronic resource]. Available at: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/403357492/?ysclid=mkmc8rzhd5937848561> (accessed 20.01.2026). (In Russian).
14. Laboratory biosecurity guidance. World Health Organization, 2024. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240095113>
15. Resolution of the Government of the Russian Federation of March 3, 2018 No 222 “On approval of the rules for establishing sanitary protection zones and using land plots located within the boundaries of sanitary protection zones” (with amendments and additions). GARANTEE [Electronic resource]. Available at: <https://base.garant.ru/71892700/?ysclid=mkmcprufvs393202079> (accessed 20.01.2026). (In Russian).
16. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 6th edition. Revised June 2020. CDC, Canadian Biosafety Standard. Third Edition. 2022. Available at: <https://www.canada.ca/en/public-health/services/canadian-biosafety-standards-guidelines/third-edition.html>
17. FELASA working group on revision of guidelines for health monitoring of rodents and rabbits; Mähler Convenor M, Berard M, Feinstein R, Gallagher A, Illgen-Wilcke B, Pritchett-Corning K, et al. FELASA recommendations for the health monitoring of mouse, rat, hamster, guinea pig and rabbit colonies in breeding and experimental units. Lab Anim. 2014 Jul;48(3):178-192. DOI: 10.1177/0023677213516312
18. GOST R 55634-2013. Services for non-productive animals. General requirements for veterinary facilities (Amendment edition) – docs.cntd.ru [Electronic resource]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200104952> (accessed 19.01.2026). (In Russian).
19. The Great Medical Encyclopedia. Ed. Petrovsky BV. 3rd edition [in 30 volumes]. M.: Sov. Encyclopedia, 1976;4:188-190. (In Russian)
20. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. GARANTEE [Electronic resource]. Available at: <https://base.garant.ru/70350564/?ysclid=mkmiyijpn3844077600> (accessed 20.01.2026).
21. Germanchuk VG, Kislitsina EV, Shavina NYu. Technical and design features of laboratories suitable for work involving infected animals. Zdorov’e naseleniya i sreda obitaniya. 2021;29(12):87-92. DOI: 10.35627/2219-5238/2021-29-12-87-92 (In Russian).
22. Germanchuk VG, Morozov KM, Semakova AP, Shavina NYu. Ensuring biological safety in laboratory for work with the infected animals. Zdorov’e naseleniya i sreda obitaniya. 2016;12(285):44-48. (In Russian).
23. GOST 33216-2014 “Guidance on the content and care of laboratory animals. Rules for the keeping and care of laboratory rodents and rabbits” (Reissue) – docs.cntd.ru [Electronic resource]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200127506> (accessed 19.01.2026). (In Russian).
24. Kislitsina EV, Germanchuk VG, Gordeeva MV, Malyukova TA, Sazanova EV. The main aspects of infecting laboratory animals with pathogenic biological agents of groups i-ii in accordance with the requirements of biological safety. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2025;(3):49-56. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-49-56 (In Russian).
25. Methodological Recommendations MP 1.3.0383-25 on the use of microbiological safety cabinets and other protective devices for working with and keeping animals infected with biohazard agents of I-IV risk groups (approved by the Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Well-being on July 21, 2025). GARANT [Electronic resource]. Available at: <https://base.garant.ru/412408692/?ysclid=mkmfajh6b460571113> (accessed 20.01.2026). (In Russian).
26. Shishkina OB, Tyurin EA. Comprehensive use of ventilation systems, air conditioning and biological safety cabinets to ensure sanitary and hygienic conditions in microbiological laboratories. Current Problems of General and Military Hygiene: Proceedings of the All-Russian Scientific and Practical Conference. St. Petersburg, 2011;106-107. (In Russian).

27. Trashchenko D, Kovaleva M. Individual cells ventilated extra investments or optimal protection of personnel and laboratory animals? *International Journal of Veterinary Medicine*. 2014;1:100-103. (In Russian).
28. Pchelintseva MV, Kostykova TA, Lyapin MN, Semakova AP, Sharov IN. Evaluation of the possibility of using personal protective equipment when working with infectious disease agents. In: *Ensuring epidemiological well-being: challenges and solutions. Proceedings of the XI Congress of the All-Russian Scientific and Practical Society of Epidemiologists, Microbiologists and Parasitologists*. 2017;487-488. (In Russian).
29. Tyurin EA, Blagodatskikh SA, Kvochko PS. Assessment of the state of professional training to reduce biological risks in staff of veterinary testing laboratories. *Bacteriology*. 2023;8(2):79-82. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-2-79-82 (In Russian).
30. GOST R 55234.4-2014 Practical aspects of risk management. Personnel requirements for reducing biorisk – docs.cntd.ru [Electronic resource]. Available at: <https://docs.cntd.ru/document/1200114208> (accessed 19.01.2026). (In Russian).
31. Kojima K, Bennett A, Blacksell S, Heisz M, Makison Booth C, McKinney M, et al. *Laboratory Biosafety Manual*. 4th ed. Geneva: World Health Organization; 2020;124. DOI: 10.48350/150305

Информация о соавторах:

Германчук Валерий Геннадьевич, доктор медицинских наук, доцент, заведующий отделом экспериментальных животных с виварием ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-8986-3640

Гордеева Марина Вячеславовна, кандидат медицинских наук, заведующая отделом биологической безопасности ФКУН «Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-3726-810X

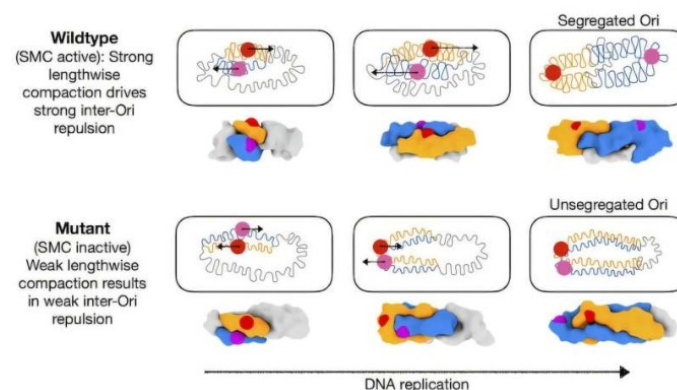
Information about co-authors:

Valery G. Germanchuk, MD, PhD, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Experimental Animals with Vivarium, Russian Scientific Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0002-8986-3640

Marina V. Gordeeva, PhD, MD, Head of the Department of Biological Safety at the Federal State Budgetary Institution Russian Scientific Research Anti-Plague Institute "Microbe" of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0003-3726-810X

НОВОСТИ НАУКИ**Репликация бактериальной ДНК основана на использовании складок, напоминающих гармошку, для разделения фрагментов ДНК**

Для точной сегрегации хромосом во время бактериальной репликации необходима глобальная реорганизация нуклеоида, где решающую роль играют комплексы структурного поддержания хромосом (SMC). В данной работе мы разрабатываем модель энергетического ландшафта, которая интегрирует основанные на данных парные взаимодействия с крупномасштабной физикой полимеров для определения трехмерных архитектурных ансамблей хромосом *Escherichia coli* и *Bacillus subtilis* на протяжении всей репликации. Мы показываем, что опосредованная SMC дальняя продольная компактизация изменяет форму нуклеоида, вызывая устойчивый переход в середине репликации, при котором концевая часть перемещается к центру нуклеоида, а дублированные точки начала репликации разделяются на противоположные половины клетки. У мутантов с дефицитом SMC этот переход отсутствует, и вместо этого наблюдается возникающее нематическое выравнивание сестринских хромосом, которое препятствует сегрегации. Возникновение нематического выравнивания сопровождается характерной межсестринской Hi-C сигнатурой. Путем систематической настройки неспецифической межсестринской адгезии мы показываем, что активность SMC расширяет физический режим, позволяющий осуществлять точное разделение хромосом. Эта буферизация защищает разделение от адгезивных сил, присущих переполненному бактериальному нуклеоиду. Данная модель обеспечивает механистическое понимание SMC-зависимого разделения хромосом при корепликации у разных видов бактерий, что позволяет получить экспериментально проверяемые предсказания для визуализации и Hi-C с разрешением по сестринским хромосомам.



Brahmachari S, Oliveira AB Jr, Mello MF, Contessoto VG, Onuchic JN. Exploring the energy landscape of bacterial chromosome segregation.

Proc Natl Acad Sci U S A. 2026 Mar 24;123(12):e2535321123. DOI: 10.1073/pnas.2535321123

Микробиологический спектр осложненного варианта течения послеоперационного периода при гинекологических операциях

М.Л.Смертина^{1,2}, Н.В.Богачёва²

¹ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, Киров, Российская Федерация;

²КОГБУЗ «Кировская областная клиническая больница», Киров, Российская Федерация

Инфекционные осложнения после хирургических вмешательств, в т.ч. гинекологических операций, остаются актуальной проблемой современной медицины. Настоящий обзор посвящен анализу микробиологического спектра осложненного варианта течения послеоперационного периода при гинекологических операциях. Причиной формирования инфицирования послеоперационной раны, с одной стороны, может быть собственный микробиоценоз пациентки, с другой – инфицирование раны может произойти в результате ее контаминации представителями микробной флоры стационара. Оценка микробиоты биотопов проведена с позиции выбора доступа к оперируемому органу – вагинального или абдоминального. При абдоминальном подходе проанализирована частота участия в развитии послеоперационных осложнений представителей собственной микрофлоры кожи. При влагалищном подходе определена частота встречаемости и значимость участия микроорганизмов урогенитального тракта.

Помимо собственной микрофлоры кожи и мочеполового тракта, клинически значимыми возбудителями инфекционных осложнений являются представители госпитальной грамотрицательной флоры из группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.). В обзоре представлена оценка приоритета участия микроорганизмов из группы ESKAPE в развитии послеоперационных осложнений. Дана характеристика факторов патогенности представителей данной группы, определяющих их роль в развитии послеоперационных осложнений.

Обоснована необходимость анализа видового состава микрофлоры в исследуемых образцах биологического материала из послеоперационной раны для назначения эффективной и персонализированной антибактериальной терапии пациентам в периоперационный и послеоперационный периоды.

Ключевые слова: гинекологические операции, инфекционные осложнения, микробиоценоз, ESKAPE-патогены, полимикробная инфекция, антимикробная резистентность, персонализированная терапия

Для цитирования: Смертина МЛ, Богачёва НВ. Микробиологический спектр осложненного варианта течения послеоперационного периода при гинекологических операциях. Бактериология. 2026; 11(1): 112–119. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-112-119

Microbiological spectrum of complicated postoperative period in gynecological surgery

M.L.Smertina^{1,2}, N.V.Bogacheva²

¹Kirov State Medical University, Kirov, Russian Federation;

²Kirov Regional Clinical Hospital, Kirov, Russian Federation

Infectious complications after surgical interventions, including gynecological operations, remain an urgent problem of modern medicine. This review is devoted to the analysis of the microbiological spectrum of a complicated postoperative course during gynecological operations. The reason for the formation of infection of the postoperative wound, on the one hand, may be the patient's own microbiocinosis, on the other hand, infection of the wound may occur as a result of its contamination by representatives of the microbial flora of the hospital. The microbiota of biotopes was evaluated from the point of view of choosing access to the operated organ – vaginal or abdominal. With the abdominal approach, the frequency of participation in the development of postoperative complications of representatives of the skin's own microflora was analyzed. In the vaginal approach, the frequency of occurrence and the significance of the participation of microorganisms of the urogenital tract were determined.

In addition to their own microflora of the skin and urogenital tract, representatives of the hospital gram-negative flora from the group ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.) are clinically significant causative agents of infectious complications. The review provides an assessment of the priority of participation of microorganisms from the ESKAPE group in the development of postoperative complications. Pathogenicity factors of the representatives of this group are described, which determine their role in the development of postoperative complications.

Для корреспонденции:

Смертина Марина Леонидовна, аспирант кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России, врач-гинеколог КОГБУЗ «Кировская областная клиническая больница»

Адрес: 610027, Киров, ул. Владимирская, 112

Статья поступила 20.10.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Marina L. Smertina, postgraduate student in the Department of Microbiology, Kirov State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Gynecologist, Kirov Regional Clinical Hospital

Address: 112 Vladimirskaia str., Kirov, 610027, Russian Federation

The article was received 20.10.2025, accepted for publication 30.03.2026

The need to analyze the species composition of microflora in the studied samples of biological material from the postoperative wound for the appointment of effective and personalized antibacterial therapy to patients in the perioperative and postoperative period is justified.

Key words: gynecological operations, infectious complications, microbiocenosis, ESKAPE pathogens, polymicrobial infection, antimicrobial resistance, personalized therapy

For citation: Smertina M.L., Bogacheva N.V. Microbiological spectrum of complicated postoperative period in gynecological surgery. Bacteriology. 2026; 11(1): 112–119. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-112-119

Инфекционные осложнения – неизбежные события в самой успешной хирургической практике. По данным научных исследований, частота инфекционных осложнений зависит от объема операции. Средняя частота инфекционных осложнений после гистерэктомии (всех ее видов) составляет 2,53%: после вагинальной гистерэктомии – 0,73–16,00%, после абдоминальной гистерэктомии – 1,10–4,05% (лапароскопическим доступом – 1,15%, лапаротомным – 3,44%) [1]. Инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ) развиваются у 2–5% пациентов после чистых операций вне органов брюшной полости и осложняют течение до 20% всех абдоминальных операций [2].

Причиной формирования воспаления послеоперационной раны, с одной стороны, может быть собственный микробиоценоз пациентки. С другой стороны, инфицирование раны может произойти в результате контаминации раны представителями микробной флоры стационара.

Рассматривая собственный микробиоценоз пациентки, следует учитывать варианты хирургических подходов при гинекологических операциях: абдоминальный и вагинальный.

При вагинальном подходе следует предполагать участие в развитии хирургических осложнений микрофлоры кожи и слизистых влагалища.

К настоящему времени известно, что на коже определяется 19 таксономических видов микроорганизмов. Среди них преобладающими являются *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus* spp., *Sarcina* spp., *Propionibacterium* spp., представители типов *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria*, *Actinobacteria* и *Corynebacterium*. Транзиторными микроорганизмами, временно персистирующими на поверхности кожи, являются *Peptococcus* spp., *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Acinetobacter* spp., *Lactobacillus* spp. и *Candida albicans*. К условно-патогенным микроорганизмам, постоянно находящимся на поверхности кожи, можно отнести *S. aureus* и *Staphylococcus saprophyticus*.

К микрофлоре кожи относятся и представители грибковой флоры. В частности, могут встречаться представители рода *Malassezia* и *Candida* [3]. Род *Malassezia* состоит из липофильных базидиомицетовых дрожжей, которые, как недавно было установлено, включают 7 видов: 1 липид-независимый (*M. pachydermatis*) и 6 липидзависимых (*M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta*, *M. slooffiae*). У пациентов с ослабленным иммунитетом *Malassezia* может действовать как оппортунистический патоген, вызывая тяжелые кожные и системные инфекции, выступая в т.ч. представителем микробиоты послеоперационных ран [4].

Несмотря на значительное количество и относительное многообразие, состав микрофлоры кожи на поверхности

может носить случайный характер, при этом в глубоких слоях он более постоянный. У здоровых людей в норме на поверхности кожи микроорганизмы обнаруживают в количестве 5–8 КОЕ/см², в глубинных слоях – 8–16 КОЕ/см², при этом доля гемолитических форм микробов не превышает, соответственно, 6–9 и 8–10% от их общего числа [5].

Изменение микробиологического состава и функциональной активности кожи, снижение ее барьерных и иммуноактивных свойств могут зависеть от различных факторов, включая локализацию, особенности аэрации, влажность, pH и др. Сальные участки кожи характеризуются доминированием факультативных анаэробов, таких как *Propionibacterium acnes*. Пониженный pH кожи ингибирует рост таких распространенных патогенов, как *S. aureus* и *Streptococcus pyogenes*, и в то же время является благоприятным для роста коагулазоотрицательных стафилококков и коринебактерий. Влажные участки кожи также обильно колонизируются представителями родов *Staphylococcus* spp. и *Corynebacterium* spp. [6].

При выполнении разреза на коже передней брюшной стенки или промежности возникает риск контаминации открывшихся тканей собственной микрофлорой. К эндогенным микроорганизмам, заселяющим кожу, относятся аэробные грамположительные кокки – *Staphylococcus* spp., при выполнении разреза вблизи от промежности или паховой области к кожной микрофлоре может присоединиться микрофлора кишечника (анаэробные и аэробы грамотрицательные бактерии). Среди доминирующих возбудителей послеоперационных осложнений при влагалищном доступе выделяют *Streptococcus agalactiae*, *Enterococcus* spp. и *Staphylococcus* spp., анаэробные грамположительные кокки – *Peptococcus* spp. и *Peptostreptococcus* spp., аэробные грамотрицательные палочки – *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae* и *Proteus* spp., анаэробные грамотрицательные палочки – из рода *Bacteroides* и *Prevotella*. Эти микроорганизмы являются частью собственной микрофлоры влагалища [7].

Данные о положительной роли комменсальной микробиоты кожи в процессах репаративной регенерации ран мягких тканей и борьбе с возбудителями раневой инфекции представлены в результатах зарубежных исследований [8].

Кожа является важным органом, распознающим патогены, а резидентные клетки кожи иницируют сигнальные каскады, необходимые для привлечения нейтрофилов и других иммунных клеток, которые борются с инфекцией [9].

При определенных условиях все вышеперечисленные условно-патогенные представители микробной флоры кожи могут быть потенциальными источниками инфицирования послеоперационной раны.

По данным Сергеева с соавт., наиболее частой причиной инфекционных осложнений среди представителей микро-

флоры кожи являются *S. epidermidis*, *S. pyogenes* и *S. aureus*. Особенностью выделенных штаммов микроорганизмов при послеоперационных осложнениях является их резистентность к метациллину, что необходимо учитывать для формирования тактики послеоперационной терапии [10].

При анализе особенностей микробиоты раневой инфекции кожи Доценко с соавт. среди основных возбудителей гнойно-хирургических инфекций рассматривают полирезистентные стафилококки (*S. aureus*, *S. epidermidis*), а также представителей грамотрицательной микрофлоры – *E. coli*, *Klebsiella* и *Pseudomonas aeruginosa*, частота высеваемости которых из ран практически равна таковой для *Staphylococcus* spp. [11].

Кунгурцева с соавт. в качестве основного этиологического фактора развития воспалительного процесса генитального тракта и его суперинфицирования выдвигают условно-патогенные облигатные неспорообразующие анаэробные микроорганизмы, такие как представители родов *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Eubacterium*, *Peptostreptococcus* и др. Среди нозокомиальных патогенов этиологическую роль в развитии послеоперационных осложнений в последнее время отводят двум видам энтерококков – *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium*. При снижении резистентности организма их определяют как основные маркеры серьезных гнойно-воспалительных заболеваний. Контаминация условно-патогенными микроорганизмами, чаще *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., колиформными бактериями, значительно повышает риск развития послеоперационных воспалительных осложнений [12].

В работах Паршина с соавт. при изучении этиологии формирования инфекции в области хирургического вмешательства среди патогенов было определено больше представителей грамотрицательной (61,0%), чем грамположительной (30,5%) микрофлоры. *E. coli* была выделена как источник развития гнойной раны в 36,3%, *E. faecium* – в 9,1%, *Morganella morganii* – в 7,6%, *S. aureus* – в 6,0% и *P. aeruginosa* – в 6,0% случаев. При поверхностных ИОХВ в биологическом материале преобладали *Staphylococcus* spp. – их выделяли более чем в 80% случаев; при глубоких ИОХВ – бактерии родов *Echerichia*, *Acinetobacter* (>70%), а при органных и полостных ИОХВ – *Enterobacter* spp., представители родов *Acinetobacter* и *Citrobacter* (>90%) [13].

Раневая микрофлора в 50,0% наблюдений носит полимикробный характер и представлена в виде микробных ассоциаций *S. aureus* с коагулазоотрицательными представителями *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *E. coli*, *P. aeruginosa* и *Enterobacter* spp. Лидирующие позиции занимают представители семейства *Enterobacteriaceae* – они являются составляющей раневой микрофлоры в 60,8% случаев. Среди них *E. coli* встречается в 30,6%, *Klebsiella* spp. – в 25,7% случаев. В исследованиях Федянина у пациентов с раневой инфекцией были выделены 42,68% изолятов семейства *Staphylococcaceae*, 26,23% – *Enterobacteriaceae*, 16,46% – неферментирующих грамотрицательных палочек, представленных *A. baumannii*, и 14,63% – *P. aeruginosa*. Из семейства *Staphylococcaceae* выделяли *S. aureus* (34,15%), коагулазоотрицательные *Staphylococcus* spp. были представлены *S. epidermidis* (8,54%). Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* были идентифицированы как следующие

виды микроорганизмов: *K. pneumoniae* (14,02%), *Proteus mirabilis* (6,71%), *E. coli* (5,49%) [14].

Изучая спектр микроорганизмов, Коренькова с соавт. проанализировали результаты исследования 422 образцов раневого отделяемого. Спектр выделенных возбудителей инфицированной раны по тинкториальным свойствам был представлен грамположительными микроорганизмами в 63,3% случаев, грамотрицательными – в 36,7%. Среди грамположительных бактерий 48,9% составили бактерии рода *Staphylococcus*, в т.ч. *S. aureus* – в 46,3%, *Enterococcus* spp. встречались в 24,9% случаев. Среди порядка *Enterobacteriales* этиологическим фактором осложнения были признаны 14,3% представителей микробиома, при этом *E. coli* составила 39%. Важное место в спектре выделенных культур занимали неферментирующие грамотрицательные бактерии с частотой встречаемости 10,6%, среди них *P. aeruginosa* – в 65,7%, *A. baumannii* – в 28,6%, *S. maltophilia* – в 5,7% случаев [15].

При изучении спектра возбудителей хирургической инфекции мягких тканей (ХИМТ) в работе Киргизовой представители рода *Staphylococcus* составили 52% (*S. aureus* – в 88,1% случаев, коагулазоотрицательные стафилококки: *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. warneri* и *S. capitis* – в 11,9%), энтеробактерии (*K. pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella ozaenae*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae*, *P. mirabilis*) – 18%. Реже среди выделенных штаммов выявляли неферментирующие бактерии (*P. aeruginosa*) – 12%, *C. albicans* – 6,0%, *S. pyogenes* и *E. faecalis* – по 3,0%. Анаэробная микробиота составила 5,7% и была представлена *Bacteroides fragilis* и *Peptostreptococcus anaerobius*. Из микробного очага у больных с ХИМТ в 78% случаев возбудителей выделяли в монокультуре, в 22% – в ассоциациях [16].

В исследованиях Евдокимовой с соавт. контаминация раневого отделяемого микроорганизмами была подтверждена в 77,7% из 136 проб, взятых из дренажей. При этом в структуре возбудителей раневой инфекции преобладали *E. coli* (24,8%), *K. pneumoniae* (17,8%) и *Enterobacter* spp. (8,9%). На долю грамположительной кокковой флоры приходилось 26,8% изолятов. Из них на *Enterococcus* spp. приходилось 11,9%, на коагулазонегативные стафилококки – 11,9%, на *Streptococcus* spp. – 3,0%, на *C. albicans* – 10,0% изолятов [17].

При возникновении поверхностной ИОХВ, по данным Розина с соавт., наиболее часто обнаруживали *S. epidermidis* (44,7%) и *S. aureus* (27,4%). При развитии глубокой ИОХВ идентифицированы *K. oxytoca* (75,0%), *E. coli* (25,0%), *S. anhaemolyticus* (15,0%) [18].

Лагун и Коваленко провели анализ 553 проб гнойного отделяемого, полученных от пациентов с гнойной хирургической инфекцией. Этиологическая структура возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний по результатам исследования была представлена *Staphylococcus* spp. (62,0%), *Streptococcus* spp. (11,4%), *E. coli* (9,2%), *P. aeruginosa* (5,4%), *P. mirabilis* (4,9%), *K. pneumoniae* (3,1%), *E. faecalis* (1,3%), *E. cloacae* (0,4%), *C. albicans* (2,0%) [19].

Исследование микробиологического профиля послеоперационной раны при гинекологических операциях нашло свое отражение и в работах зарубежных исследователей.

Strobel et al. установили, что общая частота ИОХВ составила 28,2%. Большой спектр микроорганизмов выделяли у

пациентов с развившимися ИОХВ, чем у пациентов без таковых (64,4% против 38,0%; $p < 0,001$). Энтерококки были обнаружены в 29,1% интраоперационных мазков у пациентов с ИОХВ, за ними следовала *E. coli* – 15,5%. Более высокая частота *E. faecium* была обнаружена у пациентов с анемией по сравнению с теми, у кого анемия отсутствовала (9,2% против 2,3%; $p = 0,006$), и у курящих пациентов по сравнению с некурящими (11,8% против 3,6%; $p = 0,008$) [20].

В ретроспективном когортном исследовании швейцарской национальной программы эпиднадзора за инфекциями по выявлению предикторов микробного состава ИОХВ использовали 20 признаков, включая пол, возраст, индекс массы тела (ИМТ), продолжительность операции, тип операции и хирургическую антимикробную профилактику. В целом ИОХВ были зарегистрированы у 3,8% пациентов. Наиболее распространенными патогенами, выявленными в ИОХВ, были *Enterobacteriales* (57%), *Staphylococcus* spp. (31%) и *Enterococcus* spp. (28%). Увеличение возраста и продолжительности хирургической процедуры, а также снижение ИМТ были связаны со сдвигом от *Staphylococcus* spp. к *Enterobacteriales* и *Enterococcus* spp. Было показано, что частота ИОХВ после всех операций изначально снижалась с увеличением возраста и ИМТ, но затем демонстрировала рост в старших возрастных группах и категориях с более высоким ИМТ. Из имеющихся данных наиболее распространенными изолированными патогенами были *Enterobacteriales* (28,3% *E. coli*) и *Staphylococcus* spp. (16,5% не золотистых *Staphylococcus* spp. и 12,7% метициллин-чувствительных *S. aureus*). В 46,8% случаев ИОХВ были полимикробными. Высокий ИМТ был связан с более высокой вероятностью контаминации раны *Staphylococcus* spp. и *Streptococcus* spp., низкий ИМТ – с более высоким риском обсемененности *Enterobacteriales* и *Enterococcus* spp. Возраст определил формирование бимодального распределения с более высокой вероятностью контаминации раны *Enterobacteriales* и *Enterococcus* spp. и более низкой вероятностью *Staphylococcus* и *Streptococcus* spp. в молодом и пожилом возрасте [21].

В работах Salmanov et al. у 1184 женщин, которым была выполнена лапароскопическая гистерэктомия, в 14,9% случаев была выявлена ИОХВ после операции. Частота ИОХВ составила 9,2% при общей лапароскопической гистерэктомии, 15,2% при лапароскопически-ассистированной вагинальной гистерэктомии и 17% при лапароскопической супрацервикальной гистерэктомии. Наиболее значимыми возбудителями стали *E. coli* (21,6%) и *Enterobacter* spp. (13,1%), за которыми следовали *Klebsiella* spp. (8,1%), *Streptococcus* spp. (7,0%) и *P. aeruginosa* (7,0%). Общая доля продукции β -лактамаз расширенного спектра (Extended-spectrum beta-lactamases/ESBL) среди *Enterobacteriaceae* составила 17,1%, а доля метициллинрезистентных *S. aureus* (methicillin resistance *S. aureus*/MRSA) – 15,8% [22].

Hope et al. изучили микробиологический профиль возбудителей инфицированной послеоперационной раны у 518 пациентов. Из них у 197 женщин наблюдали рост 228 патогенных изолятов; в 12,2% образцов преобладал полимикробный рост. Наиболее часто изолировали *E. coli* (22,4%) и *Klebsiella* (20,6%), за которыми следовали представители семейств *Staphylococcus* spp. (18,4%), *Pseudomonas* spp. (12,3%) и

Enterococcus spp. (6,6%). Выделенные бактериальные культуры в 63,24% случаев представляли собой одиночные/чистые изоляты, а в 36,76% – двойные (смешанные) изоляты. Среди наиболее распространенных комбинаций (48%) встречались *S. aureus* и *Klebsiella* spp. Из выделенных культур по тинкториальным свойствам грамотрицательные бактерии составили 65,59%, грамположительные – 34,41% [23].

При влагалищном подходе, как наиболее часто используемом при отдельных видах гинекологических операций, например при пролапсе гениталий, значимую роль в развитии послеоперационных осложнений играют патогены урогенитального тракта.

В ранах промежности встречаются различные микроорганизмы и их ассоциации. Это представители условно-патогенной микрофлоры, которые при наличии микст-инфекции могут приобретать патогенные свойства [24].

В исследованиях Нехриковой с соавт. среди микроорганизмов в посевах из послеоперационных ран при влагалищном подходе преобладала *E. coli*, которая была изолирована у 54,0% пациентов; *E. faecalis* был выявлен у 30,2%, *S. aureus* – у 12,7%, *P. mirabilis* – у 11,1%. *S. haemolyticus* и *K. pneumoniae* были выделены в бактериальных посевах в 9,6% случаев, *S. pyogenes* – в 4,8%. *Ureaplasma urealyticum* – в 1,8%, *Cytomegalovirus* – в 9,5%, *C. albicans* – в 4,8% и *Gardnerella vaginalis* – в 4,8%. В качестве причины послеоперационных осложнений выступали комплексы микроорганизмов, состоящие из *Ureaplasma parvum* (3,2%), *Mycoplasma hominis* (3,2%), *Herpes simplex virus* 2-го типа (1,6%). При бактериологическом исследовании также было выявлено, что в 73,0% случаев условно-патогенные микроорганизмы ассоциировали между собой. Так, сразу 4 возбудителя инфекции обнаружены у 3,2% пациентов, 3 – у 17,5%. Сочетание 2 микроорганизмов выявлено у 33 (52,4%) больных с незаживающими ранами [25].

По мнению Тихомирова, Манухина и соавт., к вторичному инфицированию пораженной ткани предрасполагают *Chlamidiya trachomatis* (19,7%), *Trichomonas vaginalis* (11,0%), *Neisseria gonorrhoeae* (9,43%), *Ureaplasma parvum* (27%), *U. urealyticum* (45,8%), *Mycoplasma genitalium* (20%), *M. hominis* (18,2%), *G. vaginalis* (25,06%), *Streptococcus* spp. (23%), *E. faecalis* (33,1%), *Staphylococcus* spp. (11,8%). В качестве абсолютного инфекционного лидера послеоперационных осложнений авторы выделяют *E. coli*, которая является значимым микроорганизмом у женщин и часто сопутствует периоперационному периоду. По частоте встречаемости как в виде моноинфекции, так и в ассоциации с другими микроорганизмами она выявляется в 65,7% случаев в биологическом материале раны [26].

В работах Абрицовой и Торчуа, посвященных тактике лечения ран после операции на промежности, наиболее часто выделяли *E. coli*, *S. aureus* и *S. epidermidis*, реже – *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *K. pneumoniae*, *P. vulgaris* и *P. mirabilis* [27].

В исследованиях Титова с соавт. показано, что патогенные микроорганизмы, передающиеся половым путем (*T. vaginalis*, *Chlamidiya trachomatis*, *Cytomegalovirus*, *Herpes virus*) в ассоциациях с условно-патогенными, клинически значимыми микроорганизмами, поддерживают хронический воспалительный процесс, в результате которого формируются

длительно незаживающие раны. Частота обнаружения таких клинически значимых микроорганизмов, как *Acinetobacter*, *Staphylococcus hemolyticus* и *S. aureus*, *P. mirabilis* в операционных ранах при влагалитном доступе, по результатам исследования авторов, составила 54,6% [28].

По результатам работ, проведенных за период 2022–2023 гг. Стяжкиной с соавт., из гнойного материала послеоперационной раны при влагалитном доступе были выделены и идентифицированы *E. coli* (20,80%), *S. aureus*, *Klebsiella* spp. (10%), *Streptococcus* spp. (8,50%), *Streptococcus pneumoniae* (6,20%), *Enterococcus* spp. (4,60%), *Pseudomonas* spp., *C. albicans* (3,80%), *Proteus* spp. (3,10%), *P. aeruginosa*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae* (2,30%), *Acinetobacter* spp., коагулазонегативные стафилококки (0,80%). Таким образом, можно сделать вывод, что наиболее часто из гнойного материала раны высевают *E. coli*, *Klebsiella* spp., *S. aureus* и *Streptococcus* spp. [29].

Анализ этиологической структуры инфекции ран промежности, сделанный группой ученых под руководством Мисевич, показал преобладание представителей семейства *Enterobacteriaceae* (78,4%), в т.ч. *E. coli* (52,3%), *K. pneumoniae* (5,3%), *Enterobacter agglomerans* (10,8%). Среди грамположительных бактерий в 15,3% случаев идентифицировали *Streptococcus* spp., в т.ч. *S. agalactiae* – в 3,8%, также были выделены *S. aureus* (4,5%) и *E. faecalis* (7,0%) [30].

При изучении особенностей микробиоценоза воспалительной раны гениталий при влагалитном доступе выполнения гинекологических операций у женщин Рустамовой с соавт. частота выделения условно-патогенных микроорганизмов была представлена следующим образом: *S. aureus* – 29,2%, *S. pyogenes* и *S. haemolyticus* – 26,4%; *E. coli* – 56,9%, *S. epidermidis* и *S. saprophyticus* – 47,2%, *Candida* spp. – 45,8%, *G. vaginalis* – 37,5% случаев; возбудители урогенитальных инфекций *T. vaginalis* – 5,6%; *Chlamydia* – 37,5%, *Ureaplasma* – 26,4%, *Mycoplasma* – 16,7%. В 62,5% случаев встречалась микст-инфекция из комплекса урогенитальных патогенов, в 31,9% обнаружены ассоциации возбудителей урогенитальной инфекции с другими патогенными микроорганизмами [31]. Такая микробиологическая картина может усугублять воспалительный процесс послеоперационных ран.

Очевидно, что микробный фактор имеет неоспоримое влияние на процессы репарации ткани влагалитца и отдаленные результаты после операции. Кроме собственной микрофлоры кожи урогенитального тракта, клинически значимыми возбудителями инфекционных осложнений выступают представители госпитальной грамотрицательной флоры группы ESKAPE (*E. faecium*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp.).

Представители группы ESKAPE являются причиной развития послеоперационных осложнений по результатам многих научно-исследовательских работ. Важной особенностью данных представителей госпитальной инфекции является их длительная жизнеспособность в среде стационаров, способность к формированию стойких биопленок и антимикробная резистентность [32].

В соответствии с критериями Всемирной организации здравоохранения все представители значимых патогенов ESKAPE делят на 2 группы. В группу «Приоритет 1: Критический» входят мультирезистентные бактерии, устой-

чивые к ≥ 3 классам антибиотиков, из грамотрицательных представителей: *A. baumannii* (устойчивые к карбапенемам), *P. aeruginosa* (устойчивые к карбапенемам), *K. pneumoniae* (устойчивые к цефалоспорином 3-го поколения) и *Enterobacter* spp. (устойчивые к цефалоспорином 3-го поколения). Группа патогенов «Приоритет 2: Высокий» включает грамположительные патогены ESKAPE, *E. faecium* (устойчивый к ванкомицину) и *S. aureus* (устойчивый к метициллину, промежуточный и устойчивый к ванкомицину). Эти патогены связаны с несколькими опасными для жизни внутрибольничными инфекциями: бактериемией, инфекциями мочевыводящих путей, пневмонией, менингитом, а также раневыми инфекциями. Следует отметить, что, хотя *E. coli* не включена в группу ESKAPE, она также была определена как основная причина таких патологических состояний, как сепсис, инфекции мочевыводящих путей. *E. coli* является распространенным комменсалом кишечника людей и животных и, подобно формальным членам ESKAPE, может приобретать гены резистентности от других бактерий, особенно от тех, что относятся к порядку *Enterobacterales*, что приводит к высоким показателям антимикробной резистентности [33].

В исследованиях, проведенных учеными из Китая, посвященных изучению патогенов из группы ESKAPE, было установлено, что в последнее время растет роль представителей рода *Enterococcus*, а именно *E. faecalis* и *E. faecium*, в развитии внутрибольничных инфекций. 10 лет назад частота выделения *E. faecium* в Китае была значительно ниже, чем у *E. faecalis*, сейчас эти два показателя сопоставимы и составляют ~50% для каждого.

S. aureus – комменсальная бактерия у человека, которая также является патогеном, вызывающим различные инфекции, от легких инфекций кожи и мягких тканей до более тяжелых состояний, таких как эндокардит, пневмония и сепсис. Также установлено увеличение распространенности *S. aureus* в популяции людей, что, вероятно, связано с постоянным появлением устойчивых к антибиотикам штаммов, в частности MRSA. Частота выделения MRSA в последние годы составляет >40%. На сегодняшний день идентифицировано не менее 15 основных типов стафилококковых касетных хромосом – SCC mec (*Staphylococcus cassette chromosome I–XV*). За последнее десятилетие MRSA-SCC mec IV и SCC mec V широко распространились в Китае, постепенно вытесняя ранее распространенные внутрибольничные типы MRSA-SCC mec II и III.

Доля *K. pneumoniae* выросла примерно с 15 до 20% среди всех клинически выделенных бактерий по всей стране (данные Center for Advancing Research and Solutions for Society/CARSS – Китайской системы надзора за антимикробной резистентностью).

В рамках общенационального эпиднадзора за инфекциями кровотока (Blood bacterial resistant investigation/BRICS – Китайская система надзора за антимикробной резистентностью при национальных инфекциях кровотока) доля *K. pneumoniae* увеличилась с 9,91% в 2014 г. до 18,9% в 2021 г. Проблема лекарственной устойчивости *K. pneumoniae* стала одной из самых сложных среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* во всем мире.

A. baumannii – представитель группы ESKAPE, условно-патогенный микроорганизм, поражающий, в частности, паци-

ентов в критическом состоянии. В настоящее время *A. baumannii* считается глобальной угрозой в сфере здравоохранения, главным образом из-за его способности приобретать фенотипы множественной лекарственной устойчивости и размножаться в условиях стационаров с невиданной ранее скоростью. Более того, *A. baumannii* во всем мире демонстрирует в 45% случаев высокий уровень множественной лекарственной устойчивости. Общая смертность от инфекции *A. baumannii* достигает 45%. Контаминация стационаров данным патогеном представляет собой серьезную проблему для контроля внутрибольничных инфекций. По результатам мониторинга CHINET (The China Antimicrobial Surveillance Network – Китайская система надзора за антимикробной резистентностью) с 2015 по 2021 г., *A. baumannii* сохраняет абсолютное доминирование среди всех клинически выделенных видов *Acinetobacter*. Относительно стабилен уровень выделения в стационарах представителя группы ESKAPE *P. aeruginosa*. По данным ученых из Китая, частота выделения патогена увеличилась с 12,7% в 2014 г. до 11,9% в 2022 г. *P. aeruginosa* по-прежнему занимает 3-е место среди клинически значимых грамотрицательных бактерий.

Микроорганизмы рода *Enterobacter* занимают 5-е место по частоте выделения грамотрицательных бактерий, составляя 3–5% всех бактериальных изолятов (данные CARSS). Среди основных выделенных из клинических образцов у пациентов в Китае – виды *E. cloacae*, *E. asburiae*, *E. hormaechei* и *E. kobei*. Все они относятся к *Enterobacter cloacae complex* – группе близкородственных бактерий рода *Enterobacter* [34].

Наличие резистентности у представителей из группы ESKAPE повышает расходы на лечение в больнице пациентов с резистентными и множественно резистентными штаммами микроорганизмов. Так, средняя общая стоимость госпитализации для пациентов с MRSA была в 1,12–6,25 раза выше, чем для пациентов с MSSA (Methicillin-sensitive *S. aureus*); средние общие расходы на лечение в стационаре среди пациентов, у которых выделяют *Enterococcus* spp. с VRE BSI (Vancomycin-Resistant *Enterococcus* BloodStream I, резистентный к ванкомицину энтерококк в крови), были в 1,57–2,02 раза выше, чем в случае с VSE (Vancomycin sensitive *Enterococcus* spp., энтерококк, чувствительный к ванкомицину); для пациентов, у которых были выделены *K. pneumoniae* и *E. coli*, прямые и косвенные затраты, а также общие расходы на лечение при ESBL (Extended Spectrum Beta-Lactamase, β-лактамаза расширенного спектра действия)-положительных инфекциях были в 1,31–1,72 раза выше, чем при ESBL-отрицательных инфекциях. Для *P. aeruginosa* средние общие расходы на лечение в стационаре для пациентов с CRPA (Carbamipines-resistant *P. aeruginosa*, устойчивые к карбапенемам *P. aeruginosa*) были в 1,23–1,68 раза выше, чем для пациентов с CSPA (Carbapenems-susceptibility *P. aeruginosa*, восприимчивые к карбапенемам *P. aeruginosa*), и т.д. [35].

Таким образом, хирургия находится в постоянном движении и совершенствовании, вследствие чего изучение факторов риска и механизмов развития осложнений позволит модернизировать имеющиеся алгоритмы ведения пациентов гинекологических стационаров. Возрастающее количество операций и глобальная проблема высокой антимикробной резистентности микробиома послеоперационных ран

требует оценки микрофлоры и разработки методов коррекции с учетом чувствительности микроорганизмов, выделенных из раны, с целью уменьшения количества послеоперационных осложнений. Очевидно, что оценка видового состава микрофлоры в исследуемых образцах необходима для назначения эффективной и персонализированной антибактериальной терапии.

Информация о финансировании

Работа выполнена в рамках внутривузовского гранта ФГБОУ ВО «Кировский ГМУ» Минздрава России №3-2025-ГРАНТ.

Financial support

The work was carried out within the framework of the intra-university grant of the Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education “Kirov State Medical University” of the Ministry of Health of the Russian Federation No 3-2025-GRANT.

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. Щукина НА, Буянова СН. Гнойно-септические осложнения после гинекологических операций. Медицинский алфавит. 2017;1(3):20-25.
2. Яковлев СВ. Высокотехнологичная периоперационная антибиотикопрофилактика в контексте хирургической концепции Fast Track. Доктор.Ру. 2016;12-1(129):43-48.
3. Соболев ЕА, Морозов АМ, Жуков СВ, Минакова ЮЕ, Протченко ИГ. Анализ микробиоты кожных покровов человека. Вестник новых медицинских технологий. 2021;15(6):76-85. DOI: 10.24412/2075-4094-2021-6-3-3
4. Vest BE, Krauland K. *Malassezia furfur*. 2023 May 22. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan.
5. Гимранова ГГ, Масягутова ЛМ, Гизатуллина ЛГ. Состояние микробиоты кожи и слизистых оболочек у работников как критерий адаптации к факторам производства. Гигиена и санитария. 2019;98(9):1015-1020. DOI: 10.18821/0016-9900-2019-98-9-1015-1020
6. Саипова НС, Тохтаев ГШ. Микробиота кожи и ее роль при дерматологических заболеваниях у больных туберкулезом легких. Universum: химия и биология. 2020;8-1(74):8-14.
7. Tkatchenko RA, Kaminski VV. Postoperative infections in obstetrics and gynecology: prevention, diagnosis and treatment. Акушерство. Гинекология. Генетика. 2017;3(1):54-65.
8. Тулупов АА, Бесчастнов ВВ, Тюменков ЮО, Ковалишена ОВ, Широкова ИЮ, Белова ИВ, и др. Пробиотики как средство усиления комменсальной микро-

- биоты кожи при лечении инфицированных ран мягких тканей. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2023;25(3):239-246. DOI: 10.36488/смач.2023.3.239-246
9. Gonzalez CD, Ledo C, Cela E, Stella I, Xu C, Ojeda DS, et al. The good side of inflammation: *Staphylococcus aureus* proteins SpA and Sbi contribute to proper abscess formation and wound healing during skin and soft tissue infections. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1;1865(10):2657-2670. DOI: 10.1016/j.bbdis.2019.07.004
10. Сергеев ДИ, Пахомова РА, Зубрицкий ВФ, Сарибекян ЭК, Бузель ИГ. Профилактика и лечение осложнений после одномоментной абдоминопластики и липосакции брюшной стенки. Вестник Медицинского института непрерывного образования. 2024;4(2):43-49. DOI: 10.36107/2782-1714_2024-4-2-43-49
11. Доценко ЮМ, Доценко ВА, Завидовская КВ. Современные особенности микробиологии раневой инфекции. Горизонты биофармацевтики: сборник научных трудов по материалам VIII Международной научно-практической молодежной конференции, посвященной 88-летию Курского государственного медицинского университета, Курск, 26 мая 2023 г., 2023;227-229.
12. Кунгурцева ЕА, Попкова СМ, Лещенко ОЯ. Взаиморазвитие микрофлоры слизистых оболочек открытых полостей различных биотопов у женщин как важный фактор их репродуктивного здоровья. Вестник Российской академии медицинских наук. 2014;69(9-10):27-32. DOI: 10.15690/vramn.v69i9-10.1128
13. Паршин ДС, Топчиев МА, Астахин ВА. Инфекции области хирургического вмешательства: факторы риска множественной антибиотикорезистентности в абдоминальной хирургии. Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н.В.Склифосовского. 2024;13(3):410-418. DOI: 10.23934/2223-9022-2024-13-3-410-418
14. Федянин СД. Мониторинг этиологической структуры возбудителей у пациентов с гнойными ранами. Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2020;19(4):40-45. DOI: 10.22263/2312-4156.2020.4.40
15. Коренькова ОА, Сычева СВ, Ефимова ТВ. Основные возбудители раневых инфекций у пациентов хирургических отделений ГАУЗ КОКБ. Материалы научно-практических конференций в рамках IX Российского конгресса лабораторной медицины (РКЛМ 2023): Сборник тезисов, Москва, 4–6 октября 2023 г. 2023;139.
16. Киргизова СБ. Спектр возбудителей хирургической инфекции мягких тканей. Проблемы медицинской микологии. 2022;24(2):81.
17. Евдокимова НВ, Черненькая ТВ, Никитина ОВ, Лебедев АГ. Спектр возбудителей осложненных абдоминальных инфекций у пациентов хирургического профиля. Неотложная медицинская помощь. Журнал им. Н.В.Склифосовского. 2023;12(1):51-56. DOI: 10.23934/2223-9022-2023-12-1-51-56
18. Розин АВ, Сергеев АН. Возбудители инфекции области хирургического вмешательства у пациентов общехирургического стационара. Тверской медицинский журнал. 2019;1:57-59.
19. Лагун ЛВ, Коноваленко МА. Антибиотикорезистентность возбудителей гнойной хирургической инфекции, выделенных в условиях стационара. Бактериология. 2021;6(3):48.
20. Strobel RM, Leistner R, Leonhardt M, Neumann K, Eschlböck SM, Lee LDG, et al. Is There an Association between Intra-Operative Detection of Pathogens in Subcutaneous Tissue and Surgical Site Infections? Results from a Prospective Study. *Surg Infect (Larchmt)*. 2022 May;23(4):372-379. DOI: 10.1089/sur.2021.154
21. Peisl S, Guillen-Ramirez H, Sánchez-Taitavull D, Widmer A, Sommerstein R, Beldi G. Influence of patient characteristics on microbial composition in surgical-site infections: insights from national surveillance study. *Br J Surg*. 2024;12;111(6):znae138. DOI: 10.1093/bjs/znae138
22. Salmanov AG, Vitiuk AD, Kovalyshyn OA, Terekhov VA, Patey PM, Kutytka TV, et al. Surgical site infection after laparoscopic hysterectomy for benign gynecological disease in Ukraine. *Wiad Lek*. 2022;75(1 pt 2):251-258.
23. Hope D, Ampaire L, Oyet C, Muwanguzi E, Twizerimana H, Apesu RO. Antimicrobial resistance in pathogenic aerobic bacteria causing surgical site infections in Mbarara regional referral hospital, Southwestern Uganda. *Sci Rep*. 2019 Nov 21;9(1):17299. DOI: 10.1038/s41598-019-53712-2
24. Шатунова ЕП, Линева ОИ, Спиридонова НВ. Оптимизация предоперационной подготовки больных к пластическим операциям в менопаузе. Лечащий врач. 2019;7:60.
25. Нехрикова СВ, Сухина МА, Майновская ОА, Фоменко ОЮ, Жарков ЕЕ, Хрюкин РЮ, и др. Обследование и лечение пациентов с хроническими послеоперационными ранами анального канала и промежности. Колопроктология. 2022;21(1):89-98. DOI: 10.33878/2073-7556-2022-21-1-89-98
26. Тихомиров АЛ, Манухин ИБ, Сарсания СИ, Тускаев КС, Юдина ТА. Рациональная антибактериальная профилактика воспалительных осложнений в инвазивной гинекологии. Медицинский алфавит. 2018;2(13):68-72.
27. Абрицова МВ, Торчуа НР. Лечение ран после операций на анальном канале и промежности. Амбулаторная хирургия. 2024;21(2):172-176. DOI: 10.21518/akh2024-041
28. Титов АЮ, Нехрикова СВ, Абрицова МВ, Маркова ЕВ, Корнева ТК. Незаживающие послеоперационные раны промежности и анального канала – что делать? Колопроктология. 2015;S1(51):50-50a.
29. Стяжкина СН, Иксанова ДИ, Кравчук СО. Анализ госпитальной хирургической инфекции в клинической больнице. Мировые стратегии развития науки и образования в новой реальности: междисциплинарные исследования: Материалы I Международной научно-практической конференции. Москва, 29 января 2024 г. 2024;97-101.
30. Мисевич АА, Бонда НА, Шебушев НГ. Этиологическая структура микрофлоры ран анального канала и промежности и их чувствительность к антибактериальным препаратам. Проблемы здоровья и экологии. 2017;1(51):43-48.
31. Рустамова МС, Рахимова СБ, Аджикова ТИ. Особенности микробиоценоза гениталий у женщин с пролапсом тазовых органов. Тезисы III Общероссийской научно-практической конференции для акушеров-гинекологов «Оттовские чтения», Санкт-Петербург, 12–13 ноября 2021 г. 2021;23-24.
32. Шарапченко СО, Габриэлян НИ, Сайтгареев РШ, Захаревич ВМ, Дабкина ИВ, Есенова НМ, и др. К проблеме предупреждения послеоперационных инфекционных осложнений в хирургии высоких технологий. Состояние вопроса. Медицинский алфавит. 2018;1(10):9-14.
33. Denissen J, Reyneke B, Waso-Reyneke M, Havenga B, Barnard T, Khan S, et al. Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health. *Int J Hyg Environ Health*. 2022;244:114006. DOI: 10.1016/j.ijheh.2022.114006
34. Luo Q, Lu P, Chen Y, Shen P, Zheng B, Ji J, et al. ESKAPE in China: epidemiology and characteristics of antibiotic resistance. *Emerg Microbes Infect*. 2024;13(1):2317915. DOI: 10.1080/22221751.2024.2317915
35. Zhen X, Lundborg CS, Sun X, Hu X, Dong H. Economic burden of antibiotic resistance in ESKAPE organisms: a systematic review. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;13;8:137. DOI: 10.1186/s13756-019-0590-7

References

1. Shchyukina NA, Buyanova SN. Purulent-septic complications after gynecologic surgery. *Medical Alphabet*. 2017;1(3):20-25. (In Russian).
2. Yakovlev SV. High-tech perioperative antibiotic prophylaxis in the context of the surgical concept of Fast Track. *Dr.Ru*. 2016;12-1(129):43-48. (In Russian).
3. Sobol EA, Morozov AM, Zhukov SV, Minakova YuE, Protchenko IG. Analysis of the microbiota of human skin. *Bulletin of New Medical Technologies*. 2021;15(6):76-85. DOI: 10.24412/2075-4094-2021-6-3-3 (In Russian).
4. Vest BE, Krauland K. *Malassezia furfur*. 2023 May 22. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 Jan.
5. Gimranova GG, Masyagutova LM, Gizatullina LG. The state of microbiotes of the skin and mucous membranes of workers as an adaptation criterion to occupational

- factors (based on the oil extraction industry. *Gigiena i sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian Journal)*. 2019;98(9):1015-1020. DOI: 10.18821/0016-9900-2019-98-9-1015-1020 (In Russian).
6. Saipova NS, Tokhtaev GSh. Skin microbiota and its role in dermatological diseases in patients with pulmonary tuberculosis. *Universum: Chemistry and Biology*. 2020;8-1(74):8-14. (In Russian).
 7. Tkatchenko RA, Kaminski VV. Postoperative infections in obstetrics and gynecology: prevention, diagnosis and treatment. *Midwifery. Ginekologiya. Genetics*. 2017;3(1):54-65. (In Russian).
 8. Tulupov AA, Beschastnov VV, Tyumenkov YuO, Kovalishena OV, Shirokova IYu, Belova IV, et al. Probiotics as a means of enhancing the commensal skin microbiota in the treatment of infected soft tissue wounds. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2023;25(3):239-246. DOI: 10.36488/cmca.2023.3.239-246 (In Russian).
 9. Gonzalez CD, Ledo C, Cela E, Stella I, Xu C, Ojeda DS, et al. The good side of inflammation: *Staphylococcus aureus* proteins SpA and Sbi contribute to proper abscess formation and wound healing during skin and soft tissue infections. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2019;1;1865(10):2657-2670. DOI: 10.1016/j.bbdis.2019.07.004
 10. Sergeev DI, Pakhomova RA, Zubritsky VF, Saribekyan EK, Buzel IG. Prevention and treatment of complications after simultaneous abdominoplasty and liposuction of the abdominal wall. *Bulletin of the Medical Institute for Continuing Education*. 2024;4(2):43-49. DOI: 10.36107/2782-1714_2024-4-2-43-49 (In Russian).
 11. Dotsenko YuM, Dotsenko VA, Zavidovskaya KV. Modern features of wound infection microbiology. *Biopharmaceutical horizons: a collection of scientific papers based on the materials of the VIII International Scientific and Practical Youth Conference dedicated to the 88th anniversary of the Kursk State Medical University, Kursk, May 26, 2023*;227-229. (In Russian).
 12. Kungurtseva EA, Popkova SM, Leschenko OY. Reciprocal formation of mucosal microflora of open cavities of different habitats in women as an important factor of their reproductive health. *Vestn Ross akad med nauk*. 2014;69(9-10):27-32. DOI: 10.15690/vramn.v69i9-10.1128 (In Russian).
 13. Parshin DS, Topchiev MA, Astakhin VA. Surgical site infections: risk factors for multiple antibiotic resistance in abdominal surgery. *Medical emergency. Journal named after N.V.Sklifosovsky*. 2024;13(3):410-418. DOI: 10.23934/2223-9022-2024-13-3-410-418 (In Russian).
 14. Fedyanin SD. Monitoring of etiological structure of pathogens in patients with purulent wounds. *Bulletin of Vitebsk State Medical University*. 2020;19(4):40-45. DOI: 10.22263/2312-4156.2020.4.40 (In Russian).
 15. Korenkova OA, Sycheva SV, Efimova TV. The main causative agents of wound infections in patients of surgical departments of GAUZ KOKB. *Materials of scientific and practical conferences within the framework of the IX Russian Congress of Laboratory Medicine (RCLM 2023): Collection of theses, Moscow, October 04-06, 2023*. 2023;139. (In Russian).
 16. Kirgizova SB. Spectrum of pathogens of surgical soft tissue infection. *Problems of Medical Mycology*. 2022;24(2):81. (In Russian).
 17. Evdokimova NV, Chernenkaya TV, Nikitina OV, Lebedev AG. Spectrum of pathogens of complicated abdominal infections in surgical patients. *Medical Emergency. Journal n.a. N.V.Sklifosovsky*. 2023;12(1):51-56. DOI: 10.23934/2223-9022-2023-12-1-51-56 (In Russian).
 18. Rosin AV, Sergeev AN. Pathogens of infection in the field of surgical intervention in patients of a general surgical hospital. *Tver Medical Journal*. 2019;1:57-59. (In Russian).
 19. Lagun LV, Konovalenko MA. Antibiotic resistance of purulent surgical infection pathogens isolated in the hospital. *Bacteriology*. 2021;6(3):48. (In Russian).
 20. Strobel RM, Leistner R, Leonhardt M, Neumann K, Eschlböck SM, Lee LDG, et al. Is There an Association between Intra-Operative Detection of Pathogens in Subcutaneous Tissue and Surgical Site Infections? Results from a Prospective Study. *Surg Infect (Larchmt)*. 2022 May;23(4):372-379. DOI: 10.1089/sur.2021.154
 21. Peisl S, Guillen-Ramirez H, Sánchez-Taltavull D, Widmer A, Sommerstein R, Beldi G. Influence of patient characteristics on microbial composition in surgical-site infections: insights from national surveillance study. *Br J Surg*. 2024;12;111(6):znae138. DOI: 10.1093/bjs/znae138
 22. Salmanov AG, Vitiuk AD, Kovalyshyn OA, Terekhov VA, Patey PM, Kutytyska TV, et al. Surgical site infection after laparoscopic hysterectomy for benign gynecological disease in Ukraine. *Wiad Lek*. 2022;75(1 pt 2):251-258.
 23. Hope D, Ampaire L, Oyet C, Muwanguzi E, Twizerimana H, Apecu RO. Antimicrobial resistance in pathogenic aerobic bacteria causing surgical site infections in Mbarara regional referral hospital, Southwestern Uganda. *Sci Rep*. 2019 Nov 21;9(1):17299. DOI: 10.1038/s41598-019-53712-2
 24. Shatunova EP, Lineva OI, Spiridonova NV. Optimization of preoperative preparation of patients for plastic surgery in menopause. *Attending physician*. 2019;7:60. (In Russian).
 25. Nekhrikova SV, Sukhina MA, Mainovskaya OA, Fomenko OYu, Zharkov EE, Khryukin RYu, et al. Examination and Treatment of Patients with Chronic Postoperative Anal and Perineal Wounds. *Coloproctology*. 2022;21(1):89-98. DOI: 10.33878/2073-7556-2022-21-1-89-98 (In Russian).
 26. Tikhomirov AL, Manukhin IB, Sarsania SI, Tuskaev KS, Yudina TA. Rational antibacterial prevention of inflammatory complications in invasive gynecology. *Medical alphabet*. 2018;2(13):68-72. (In Russian).
 27. Abritsova MV, Torchua NR. Wound management after anal and perineal surgeries. *Ambulatory surgery*. 2024;21(2):172-176. DOI: 10.21518/akh2024-041 (In Russian).
 28. Titov AYU, Nekhrikova SV, Abritsova MV, Markova EV, Korneva TK. Non-healing postoperative wounds of the perineum and anal canal – what to do? *Coloproctology*. 2015;S1(51):50-50a. (In Russian).
 29. Styazhkina SN, Iksanova DI, Kravchuk SO. Analysis of hospital surgical infection in a clinical hospital. *World strategies for the development of science and education in a new reality: interdisciplinary research: Materials of the I International Scientific and Practical Conference, Moscow, January 29, 2024*. 2024;97-101. (In Russian).
 30. Misevich AA, Bonda NA, Shebushev NG. The etiological structure of the microflora of anal and perineal wounds and their sensitivity to antibacterial drugs. *Health and Environmental Concerns*. 2017;1(51):43-48. (In Russian).
 31. Rustamova MS, Rakhimova SB, Adzhikova TI. Features of genital microbiocenosis in women with pelvic organ prolapse. *Theses of the III All-Russian Scientific and Practical Conference for Obstetricians and Gynecologists "Ottovsky Readings," St. Petersburg, November 12-13, 2021*. 2021;23-24. (In Russian).
 32. Sharapchenko SO, Gabrielyan NI, Saitgareev RSh, Zakharevich VM, Drabkina IV, Esenova NM, et al. On prevention of postoperative infectious complications in high-tech surgery. *Status of problem. Medical Alphabet*. 2018;1(10):9-14. (In Russian).
 33. Denissen J, Reyneke B, Waso-Reyneke M, Havenga B, Barnard T, Khan S, et al. Prevalence of ESKAPE pathogens in the environment: Antibiotic resistance status, community-acquired infection and risk to human health. *Int J Hyg Environ Health*. 2022;244:114006. DOI: 10.1016/j.ijheh.2022.114006
 34. Luo Q, Lu P, Chen Y, Shen P, Zheng B, Ji J, et al. ESKAPE in China: epidemiology and characteristics of antibiotic resistance. *Emerg Microbes Infect*. 2024;13(1):2317915. DOI: 10.1080/22221751.2024.2317915
 35. Zhen X, Lundborg CS, Sun X, Hu X, Dong H. Economic burden of antibiotic resistance in ESKAPE organisms: a systematic review. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2019;13;8:137. DOI: 10.1186/s13756-019-0590-7

Информация о соавторе:

Богачёва Наталья Викторовна, доктор медицинских наук, доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Кировский государственный медицинский университет» Минздрава России
ORCID: 0000-0002-7021-6232

Information about co-author:

Natalya V. Bogacheva, MD, PhD, DSc, Associate Professor, Department of Microbiology, Kirov State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation
ORCID: 0000-0002-7021-6232

К 75-летию доктора биологических наук Коломбет Любови Васильевны



17 марта 2026 г. ученому секретарю Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии, доктору биологических наук Коломбет Любови Васильевне исполнилось 75 лет.

Любовь Васильевна родилась в Архангельске. В 1973 г. закончила обучение на кафедре генетики биологического факультета Московского государственного университета им. Ломоносова. В 1976 г. закончила аспирантуру при Институте медицинской генетики Академии медицинских наук СССР и успешно защитила кандидатскую диссертацию в области регулирования активности генов в процессе развития млекопитающих.

Свой путь ученого Любовь Васильевна начала в 1977 г. во Всесоюзном научно-исследовательском институте прикладной микробиологии (ВНИИ ПМ).

Но уже в 27 лет (1978 г.) она была назначена начальником лаборатории иммунобиохимии, в которой была разработана технология производства ревертазы и осуществлен запуск производства этого фермента на Омутнинском биохимическом заводе. За разработку и организацию промышленного производства реагентов для синтеза

генетических структур в 1987 г. Коломбет Л.В. совместно с коллективом авторов стала лауреатом Премии Совета министров СССР.

В 1990-е гг. она продолжила свою научную деятельность в отделе разработки микробиологических средств защиты растений. В этот период руководила международными научными проектами, была независимым экспертом в составе Пятой рамочной программы Европейского союза, в течение 10 лет являлась научным руководителем Программы сотрудничества с Королевским технологическим институтом (Бангкок, Таиланд), с 2000 г. – секретарем Международной организации по биологической борьбе с вредными организмами (International Network on Biocontrol). В настоящее время – эксперт кластера биомедицинских технологий Инновационного центра Сколково.

В 2006 г. Любовь Васильевна успешно защитила докторскую диссертацию по научному обоснованию и практической реализации технологий создания грибных препаратов для защиты растений от болезней. В этом же году она продолжила свой научный путь в Научно-исследовательском центре токсикологии и гигиенической регламентации биопрепаратов ФМБА России в должности начальника отдела.

В январе 2011 г. Любовь Васильевна вернулась в стены обновленного Государственного научного центра прикладной микробиологии и биотехнологии (ГНЦ ПМБ) Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, где в 1977 г. начала свою научную карьеру. С этого же времени она является ученым секретарем Центра.

Любовь Васильевна обеспечивает научно-организационное сопровождение выполнения планов научно-исследовательских работ Центра. Под ее руководством и при ее непосредственном участии осуществляется контроль за деятельностью научных подразделений, аттестация научных сотрудников, что способствует успешному выполнению планов НИР и государственного задания. По запросам Роспотребнадзора и Министерства образования и науки Любовь Васильевна осуществляет подготовку и оформление сводных документов по научно-технической деятельности Центра.

Любовь Васильевна решает также разнообразные вопросы, касающиеся образовательной деятельности ГНЦ ПМБ, участвует в разработке основных и дополнительных образовательных программ, в организации учебного процесса в аспирантуре, курирует работу Совета молодых ученых Центра.

Коломбет Л.В. – автор и соавтор более 140 научных публикаций, монографий и патентов. В течение 15 лет была активным членом Диссертационного совета ГНЦ ПМБ, оппонировала и рецензировала диссертационные работы соискателей, оказывала помощь сотрудникам учреждения в подготовке работ к защите.

Для Любови Васильевны не существует второстепенных задач: к каждой она подходит с предельной концентрацией и чувством личной ответственности за результат.

Благодаря активной и ответственной работе Коломбет Л.В. планомерно осуществляется научная деятельность Центра в соответствии с плановыми заданиями руководства. К ней часто обращаются за консультациями как молодые специалисты, так и опытные сотрудники; ее мнение является весомым при принятии важных научно-организационных решений.

Данные качества вызывают глубокое уважение у коллег и делают ее ключевым звеном в обеспечении деятельности Центра. Любовь Васильевна является ценным сотрудником, опорой коллектива и примером для подражания.

За вклад в развитие научных исследований, проводимых во ВНИИ ПМ/ГНЦ ПМБ, Коломбет Л.В. награждена нагрудным знаком и Почетной грамотой Роспотребнадзора (2018), нагрудным знаком «Почетный работник Роспотребнадзора» (2024 г).

Руководство и коллектив ГНЦ ПМБ искренне желают нашему юбиляру дальше сохранять молодость души, неугасающий интерес к жизни и работе, а также крепкого здоровья и долголетия!

*Редколлегия журнала «Бактериология», коллектив Издательства «Династия»
поздравляют Любовь Васильевну со знаменательным юбилеем,
желают ей крепкого здоровья, неиссякаемого вдохновения
и творческой энергии!*

Правила оформления статей (основные положения)

Журнал «Бактериология» публикуется на русском языке (резюме статей и ключевые слова – на русском и английском языках), распространяется на бумажном носителе и публикуется в электронной форме.

К публикации принимаются экспериментальные и обзорные статьи, а также короткие сообщения по прикладным и фундаментальным вопросам медицинской, ветеринарной и сельскохозяйственной бактериологии. Статьи принимаются без ограничения объема от граждан любой страны на русском языке. По согласованию с редакцией допускается публикация рекламных материалов, соответствующих тематике журнала.

Публикации, созданные в порядке выполнения служебного задания, должны иметь направление от учреждения, в котором выполнена работа. В направлении следует указать, что представленный материал ранее не был нигде опубликован и не находится на рассмотрении для публикации в других изданиях (включая зарубежные).

К публикации прилагается экспертное заключение организации об отсутствии ограничений для открытой публикации представленных материалов.

Материалы для публикации, включая сопровождающие документы, направляются в редакцию в электронной форме по адресу: info@obolensk.org или bacteriology@obolensk.org. В теме сообщения следует указать «Бактериология».

Требования к оформлению статьи

Экспериментальная статья должна состоять из разделов: введение, материалы и методы, результаты и обсуждение, список литературы.

Рукопись должна быть подготовлена в текстовом редакторе MS Word, шрифт – Times New Roman, размер – 14, межстрочный интервал – 1,5, поля – 2 см. Статья должна включать резюме и ключевые слова на русском и английском языках. Нумерация всех страниц рукописи сквозная.

Краткие сообщения представляются без таблиц и рисунков.

Статья должна быть подписана всеми авторами, включая иностранных.

К статье следует приложить сведения об авторах на русском и английском языках с указанием адреса, контактных телефонов (служебного и мобильного), факса и электронной почты с указанием автора, ответственного за переписку с редакцией.

Заглавие статьи оформляется следующим образом:

НАЗВАНИЕ СТАТЬИ

И. И. Иванов*, П. П. Петров**

*Первая организация, г. Москва, РФ

**Вторая организация, Техас, США

E-mail

[далее текст аннотации и ключевые слова]

Текст статьи, включая резюме, список литературы, подписи к рисункам и таблицы, должны быть оформлены одним файлом, а каждый рисунок – отдельным файлом.

РЕЗЮМЕ статьи должно быть представлено на русском и английском языках, отражать основные полученные результаты и содержать не более 250 слов.

КЛЮЧЕВЫХ СЛОВ (словосочетаний) должно быть не более 10, на русском и английском языках.

Во ВВЕДЕНИИ (без заголовка) следует изложить мотивацию написания данной работы и отдельным абзацем обозначить цель исследования. Дополнительно на английском языке.

Раздел МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ должен содержать сведения об объекте исследования (включая источник получения, название коллекции) и краткое описание использованных методик, позволяющее их воспроизвести (на ранее опубликованные и общеизвестные методы дается ссылка); для приборов и реактивов указываются название фирмы на языке оригинала в кавычках и страны в скобках.

Следует использовать общепринятые современные сокращения мер, физических, химических и математических величин, терминов и т.д. Единицы измерения должны даваться в единицах СИ (Система Интернациональная). Обозначения мутантных и рекомбинантных форм микроорганизмов следует приводить в соответствии с международными правилами. Для трехбуквенного обозначения генов бактерий используют строчные буквы (курсив).

Рисунки и таблицы размещаются в тексте статьи в соответствии с пожеланиями авторов. Кроме того, черно-белые и цветные рисунки (в формате *.jpg) прилагаются к статье в виде отдельных файлов (ris1.jpg, ris2.jpg и т.д.)

Сведения о финансовой поддержке работы приводятся в конце текста статьи перед списком литературы.

В СПИСКЕ ЛИТЕРАТУРЫ указываются авторы, название статьи, название журнала или сборника, год, номер, страницы. Для названия журналов используются общепринятые сокращения (<http://www.nlm.nih.gov/>).

В случае невыполнения настоящих правил оформления статья не принимается и отсылается авторам на доработку.

Редакция оставляет за собой право редактировать статьи по согласованию с автором.

Присланные в редакцию статьи проходят процедуру рецензирования. В случае отклонения статьи редакция направляет автору мотивированный отказ.

Публикация – бесплатная.

Статьи направлять по адресу:
142279, Московская обл.,
Серпуховский р-н, п. Оболенск, ГНЦ ПМБ
Тел. (4967) 36-00-46
Факс (4967) 36-00-10
E-mail: info@obolensk.org
или
bacteriology@obolensk.org