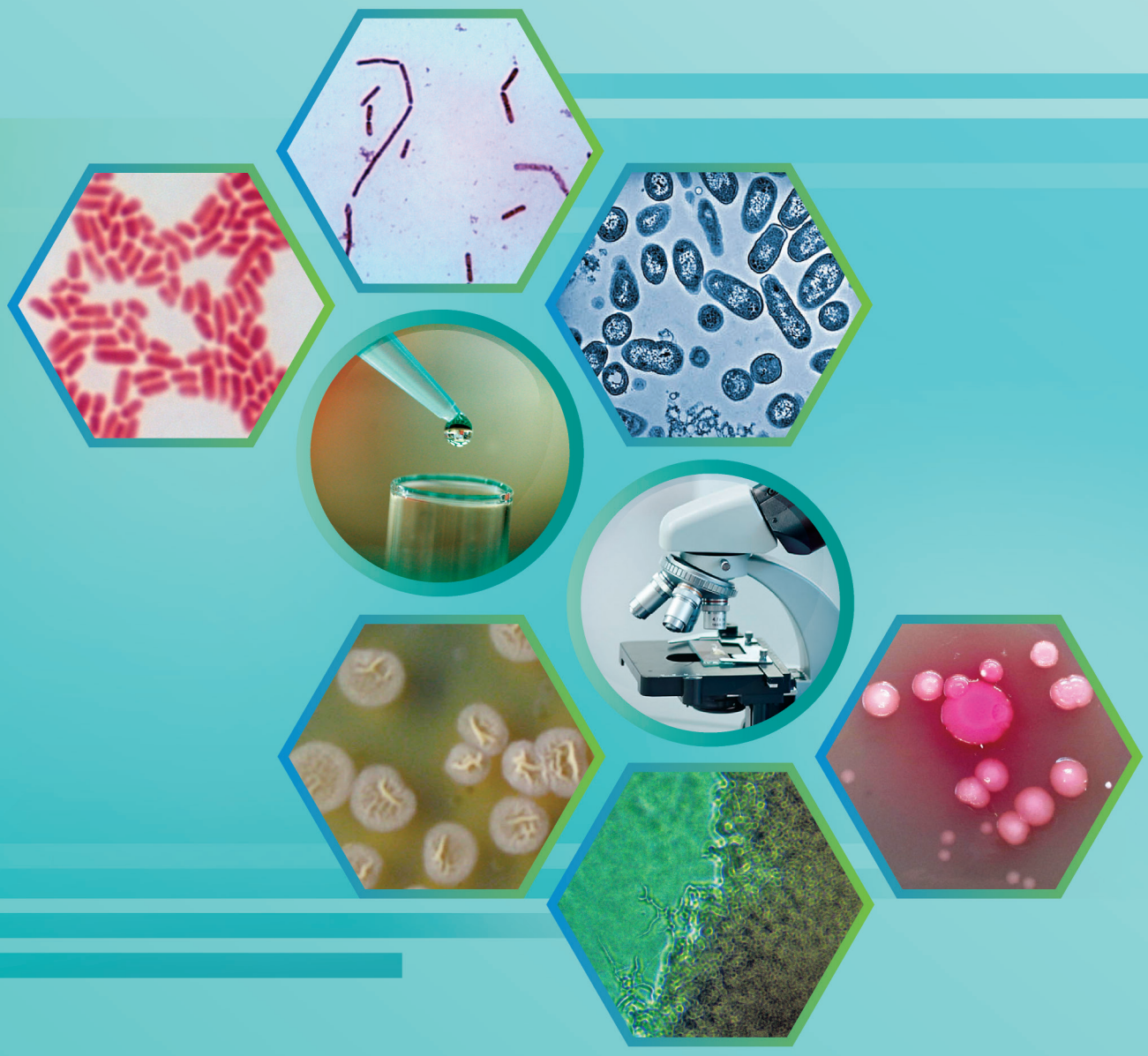
БАКТЕРИОЛОГИЯ

Bacteriology



2026 • том 11 • №2

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.А.Базиков, д.м.н., проф. (Россия)
М.И.Буаро, д.м.н., проф. (Гвинейская Республика)
В.А.Горбунов, к.м.н. (Белоруссия)
Ш.Гурбанов, к.м.н. (Азербайджанская Республика)
С.В.Дентовская, д.м.н. (Россия)
Л.В.Домотенко, к.х.н. (Россия)
Г.А.Каримова, к.б.н. (Франция)
А.В.Карлышев, к.б.н., проф. (Великобритания)
Л.В.Коломбет, д.б.н. (Россия)
М.Н.Косой, к.б.н. (США)
И.Х.Маматкулов, д.м.н., проф. (Республика Узбекистан)
С.Г.Марданлы, д.м.н. (Россия)
Т.В.Мека-Меченко, д.м.н. (Казахстан)
В.Л.Мотин, к.б.н., проф. (США)
В.В.Помазанов, д.т.н., проф. (Россия)
Т.В.Припутневич, член-корр. РАН, д.м.н. (Россия)
А.В.Ракин, к.м.н. (Германия)
Э.А.Светоч, д.в.н., проф. (Россия)
О.Е.Хохлова, д.б.н., доцент (Россия)
В.Н.Царев, д.м.н., проф. (Россия)
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 является научным изданием, осуществляющим поддержку целей и задач Ассоциации «Национальное научно-практическое общество бактериологов»
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 30.06.2026
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
ПИ №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 1320 экз. Цена свободная.

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

Подписной индекс по объединенному каталогу «Пресса России»: 39920

Бактериология
Научно-практический журнал
2026 • том 11 • №2

СОДЕРЖАНИЕ

Колонка главного редактора

Современные разработки в области создания средств иммунопрофилактики сибирской язвы **5**

Экспериментальные статьи

Молекулярно-генетическая характеристика клебсиеллезного бактериофага KpS7 – нового представителя Т-четных фагов рода *Jiaodavirus*
В.А.Волкова, Е.А.Денисенко, В.М.Красильникова, А.А.Кисличкина, Н.В.Воложанцев **8**

Генетическая характеристика мундтицина Р436 и оценка штамма *Enterococcus mundtii* SCPM-O-B-8925 в качестве его промышленного продуцента
М.Г.Теймуразов, А.А.Абаимова, И.М.Коваленко, О.И.Тазина, А.А.Кисличкина **17**

Конструирование продуцента рекомбинантного пестицина
М.Е.Платонов, П.Х.Копылов, С.В.Дентовская, А.П.Анисимов **25**

Применение кишечнорастворимых капсул для пероральной трансплантации микробиоты кишечника на макаках резусах (*Macaca mulatta*)
В.И.Полякова, А.В.Демерчян, Е.И.Мухаметзянова, М.А.Котова, И.М.Аршба **30**

Состав лактофлоры генитального тракта женщин при уреаплазменной и цитомегаловирусной инфекциях
Г.З.Халдарбекова **39**

Микробиологическая диагностика микоплазменной и хламидийной инфекции при острых респираторных заболеваниях и пневмонии у детей
Л.Г.Боронина, Е.В.Саматова, Н.А.Кочнева **45**

Совершенствование мониторинга водных объектов окружающей среды на наличие холерных вибрионов
М.И.Ежова, В.Д.Кругликов, Е.А.Меньшикова, О.В.Дуванова, Л.А.Егиазарян, В.С.Казьмина, П.В.Бодрая, Е.С.Шипко, И.П.Олейников, А.К.Зубкова, М.М.Сагакянц, В.А.Лычман **50**

Разработка панелей контрольных образцов для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры
М.В.Полеева, В.В.Агафонова, М.М.Сагакянц, В.Д.Кругликов, С.О.Водопьянов, В.А.Лычман, Е.Н.Гудуева **57**

Применение методики оценки жизнеспособности клеток *Cronobacter sakazakii* с использованием моноазида пропидия и ПЦР в реальном времени
Ю.М.Маркова, А.С.Полянина, В.В.Стеценко, Ю.В.Смотрина, Н.Р.Ефимочкина, С.А.Шевелева **65**

Фенотипическая характеристика штамма возбудителя мелиоидоза, впервые выделенного в России
С.И.Жукова, Н.Г.Плеханова, И.А.Хабарова, П.Р.Чирсков, А.Ю.Замарина, И.Б.Захарова, А.В.Топорков **71**

Чувствительность к средствам антибактериальной химиотерапии *Yersinia pestis* из горных очагов чумы Сибири: ретроспективное исследование и современное состояние
Е.Г.Токмакова, И.Г.Хвойнова, С.С.Архипенко, С.А.Витязева, Д.Н.Шипилова, В.А.Вишняков, С.В.Балахонов **77**

Устойчивость к антимикробным препаратам изолятов *Salmonella* spp., *Listeria* spp. и *Staphylococcus* aureus, выделенных из продуктов питания в Санкт-Петербурге и Ленинградской области
И.А.Деревянченко, Л.А.Краева, Л.А.Кафтырева, Л.С.Ветрова **84**

Исследование адгезивной активности оральных лактобактерий (*in vitro*)
А.А.Пономарева, Е.И.Харина, А.А.Морозова, Л.Д.Тимченко, Н.И.Пенькова, Н.И.Гандрабурова, М.Н.Сизоненко **94**

Противомикробная активность полимерных комплексов сополимеров N-виниламидов и оксикоричной кислоты с катионными ПАВ
Е.П.Ананьева, С.В.Гурина, Е.Т.Подоляко, Н.А.Нестерова, Е.Ф.Панарин, А.М.Клабуков, А.А.Штро **99**

Обзоры

Профилактическая вакцинация у обезьян: современные подходы, риски и перспективы формирования единого календаря вакцинации
Д.И.Догадов, В.Г.Оробей, С.А.Фокин, Г.Г.Онищенко **104**

Комплексный анализ рисков и управление качеством в производстве менингококковых вакцин
А.А.Белянкин, Т.Ф.Черных **115**

Генотипирование *Yersinia enterocolitica*
Е.В.Ступникова, Р.В.Писанов, А.С.Водопьянов, С.Ю.Темякова, А.А.Ковалевич **124**

Правила оформления статей (основные положения) **136**

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

The journal supports the aims and objectives of the National Scientific and Practical Society of Bacteriologists
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

Bacteriology
Scientific and Practical Journal

2026 • volume 11 • No 2

CONTENTS

Editor-in-Chief's Introduction

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

Experimental Articles

Molecular genetic characteristics of the Klebsiella bacteriophage KpS7, a new member of the T-even phages of the genus *Jiaodavirus*
V.A.Volkova, E.A.Denisenko, V.M.Krasilnikova, A.A.Kislichkina, N.V.Volozhantsev **8**

Genetic characterization of mundticin p436 and evaluation of *Enterococcus mundtii* SCPM-O-B-8925 strain as it`s industrial producer
M.G.Teymurazov, A.A.Abaimova, I.M.Kovalenko, O.I.Tazina, A.A.Kislichkina **17**

Designing a recombinant pesticide producer
M.E.Platonov, P.Kh.Kopylov, S.V.Dentovskaya, A.P.Anisimov **25**

Use of enteric-coated capsules for oral gut microbiota transplantation in rhesus macaques (*Macaca mulatta*)
V.I.Polyakova, A.V.Demerchyan, E.I.Mukhametzyanova, M.A.Kotova, I.M.Arshba **30**

Lactoflora composition of the genital tract of women with ureaplasma and cytomegalovirus infections
G.Z.Khaldarbekova **39**

Microbiological diagnostics of mycoplasma and chlamydia infections in acute respiratory diseases and pneumonia in children
L.G.Boronina, E.V.Samatova, N.A.Kochneva **45**

Enhancement of environmental water body monitoring for the presence of *Vibrio cholerae*
M.I.Ezhova, V.D.Kruglikov, E.A.Menshikova, O.V.Duvanova, L.A.Egiazaryan, V.S.Kazmina, P.V.Bodraya, E.S.Shipko, I.P.Oleynikov, A.K.Zubkova, M.M.Sagakyants, V.A.Lychman **50**

Development of control sample panels for complex application in the practice of laboratory diagnostics of cholera
M.V.Poleeva, V.V.Agafonova, M.M.Sagakyants, V.D.Kruglikov, S.O.Vodopyanov, V.A.Lychman, E.N.Gudueva **57**

Application of a methodology for evaluating the viability of *Cronobacter sakazakii* cells using the monoazide propidium and real-time PCR
Yu.M.Markova, A.S.Polyanina, V.V.Stetsenko, Yu.V.Smotrina, N.R.Efimochkina, S.A.Sheveleva **65**

Phenotypic characteristics of the *Burkholderia pseudomallei* strain first isolated in Russia
S.I.Zhukova, N.G.Plekhanova, I.A.Khabarova, P.R.Chirskov, A.Yu.Zamarina, I.B.Zakharova, A.V.Toporkov **71**

Sensitivity of *Yersinia pestis* from mountain plague foci of Siberia to antibacterial chemotherapy agents: retrospective study and current state
E.G.Tokmakova, I.G.Khvoinova, S.S.Arkhipenko, S.A.Vitiazeva, D.N.Shipilova, V.A.Vishnyakov, S.V.Balakhonov **77**

Antibacterial resistance of *Salmonella* spp., *Listeria* spp., and *Staphylococcus aureus* isolates from food products in St. Petersburg and the Leningrad Region
I.A.Derevyanchenko, L.A.Kraeva, L.A.Kaftyreva, L.S.Vetrova **84**

Study of adhesive activity of oral lactobacilli (*in vitro*)
A.A.Ponomareva, E.I.Kharina, A.A.Morozova, L.D.Timchenko, N.I.Penkova, N.I.Gandraburova, M.N.Sizonenko **94**

Antimicrobial activity of polymer complexes of copolymers of N-vinylamides and hydroxycinnamic acid with cationic surfactants
E.P.Ananyeva, S.V.Gurina, E.T.Podolyako, N.A.Nesterova, E.F.Panarin, A.M.Klabukov, A.A.Shtro **99**

Reviews

Preventive vaccination in monkeys: modern approaches, risks and prospects for the formation of a unified vaccination schedule
D.I.Dogadov, V.G.Orobei, S.A.Fokin, G.G.Onishchenko **104**

Comprehensive risk analysis and quality management in the production of meningococcal vaccines
A.A.Belyankin, T.F.Chernykh **115**

Genotyping of *Yersinia enterocolitica*
E.V.Stupnikova, R.V.Pisanov, A.S.Vodopyanov, S.Y.Temyakova, A.A.Kovalevich **124**

Instructions for Authors **136**

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 5–7
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 5–7

Современные разработки в области создания средств иммунопрофилактики сибирской язвы

Стигматизация сибирской язвы как биологического оружия и инструмента биотерроризма возникла после искусственной вспышки этой инфекции в США в 2001 г., что сделало ее проблемой национальной безопасности и общественного здравоохранения. За 25 лет по данной теме было опубликовано в мире более 20 тыс. статей.

Недавно появились последние данные о затратах на лечение от сибирской язвы в мире. Объем рынка лечения кожной формы в 2025 г. оценивается в 434,3 млрд долларов США и достигнет 797,92 млрд к 2033 г. при среднегодовом темпе роста 7,90%. Цифры достаточно неожиданные, но официальные, и если принять их к сведению, то проблема специфической профилактики сибирской язвы для контингентов риска вырисовывается особо актуальной.



Жана-Батиста-Андре Дамблана
«Вакцинация овец Л.Пастером», 1885.
Парижский Музей Пастера.

К настоящему времени разработки в области создания средств специфической профилактики сибирской язвы разделились на несколько направления: живые вакцины на основе ослабленных вирулентных штаммов; живые вакцины на основе бескапсульных штаммов; химические вакцины на основе протективного антигена *Bacillus anthracis*; комбинированные вакцины на основе бескапсульных штаммов и протективного антигена; комбинированные вакцины, компоненты которых получены с помощью методов генной инженерии. История создания таких вакцин или прототипов описана в нескольких монографиях по сибирской язве. В последние годы произошли значительные сдвиги в разработках наиболее безопасных и эффективных вакцин, лишенных многих отрицательных качеств живых вакцин в различных их вариантах.

В России для иммунизации людей традиционно используют вакцину СТИ-1 (по названию Санитарно-технического института, бескапсульный клон №1), полученную Н.Н.Гинсбургом в 1940 г. Она достаточно эффективна, однако вызывает различные нежелательные последствия, связанные с реактогенностью. И это не удивительно, так как практически все живые вакцины против бактериальных особо опасных инфекций по существу являются слабовирулентными штаммами. Специалисты, работающие в данной области, хорошо знают, какие процессы в организме человека и животных вызывают такие штаммы в период фазы нестерильного иммунитета. В связи с этим группы, работающие в мире по созданию средств иммунопрофилактики сибирской язвы, решают проблему конструирования субъединичных вакцин, обеспечивающих меньшую реактогенность при сохранении уровня протективности живых вакцин.

Для иммунизации сельскохозяйственных животных в России выпускается вакцина на основе штамма №55, которую начали применять с 1985 г., а с 1986 г. почти повсеместно используют только эту вакцину. Таким образом, в нашей стране узаконены только две сибиреязвенные вакцины для иммунизации людей и животных.

В США выпускается вакцина Anthrax Vaccine Adsorbed (Biothrax) адсорбированная жидкая, основу которой составляет протективный антиген, получаемый при культивировании бескапсульного штамма V770-NP-1-R. Состоит она из протективного антигена и следовых количеств LF (летальный

фактор) и EF (отечный фактор). С 1998 г. этой вакциной было привито более 520 000 военнослужащих США, для чего было использовано более 2 млн доз вакцины. Из 1544 случаев побочных реакций 5% оказались достаточно серьезными (эритема, отек и боль, лихорадка, усталость, головные боли и миалгия). Всего для создания иммунитета необходимо было осуществить 5 прививок в течение 18 мес. с ежегодной последующей ревакцинацией для поддержания титров антител. Улучшенной формой этого препарата явилась новая вакцина Cyfendus® с адъювантом CpG, которая вводится трехкратно обладает более низкой реактогенностью, хотя данных о масштабных эпидемиологических испытаниях не приводится.

Для профилактических прививок всех видов домашних животных против сибирской язвы по рекомендациям Всемирной организации здравоохранения во многих странах мира применяют вакцину Anthrax Spore Vaccine. В частности, такую споровую вакцину на основе штамма 34F2 Sterne изготавливают в Великобритании. На основе этого штамма некоторое время также выпускалась вакцина с добавлением ланолина и жидкого парафина.

Есть множество экспериментальных вакцин и прототипов с различной эффективностью и реактогенность, но свое массовое применение нашли только указанные выше.

В 2019 г. в ГНЦ ПМБ была поставлена задача создания рекомбинантной субъединичной сибиреязвенной вакцины, приближающейся по протективности к живой СТИ-1 и обладающей меньшей реактогенностью. В результате исследований и разработок был получен штамм *Escherichia coli* – продуцент слитого белка rLF1-PA4. Слитые участки генома, кодирующие I домен LF, сшиты с IV доменом протективного антигена и клонированы в вектор pLate51. Была достигнута высокая индуцибельная экспрессия, что позволило получить промышленный результат по продуктивности от 75 мг/л, который может быть существенно увеличен при оптимизации самого производства белка. На основе этого слитного белка создан прототип препарата «Вакцина сибиреязвенная субъединичная комбинированная адсорбированная (ВССКА)», состоящая из химерного сибиреязвенного белка LF1-PA4 и биогенного агониста TLR-рецепторов – белка OmpA *Shigella flexneri*, сорбированных на гидроокиси алюминия. Наиболее трудоемким был именно поиск компонента, усиливающего протективные свойства слитного белка. Было показано, что OmpA достоверно увеличивает защитные свойства вакцины, и показана высокая эффективность препарата при 2–3-кратном введении. При заражении вирулентным штаммом в дозе 106 спор на кролика (~10–50 DCL) три серии вакцины обеспечивали защиту от гибели от 83 до 100% животных, что является очень хорошим результатом. Доклинические исследования начаты в 2025 г. и продолжаются в текущем. Основными положительными качествами разработанного препарата, отличающими его от живой вакцины, являются низкая реактогенность, возможность использования в сочетании с превентивной антибиотикотерапией, а также возможность аэрозольной вакцинации для усиления местного легочного иммунитета и некоторые другие.

В мире разрабатывается несколько принципиально новых вакцин для иммунизации против сибирской язвы. Одна из них – вакцина на основе вирусоподобных частиц (VLP) – включает капсид основного антигена гепатита сурка (WHcAg), на каждой наночастице которого размещено 240 копий эпитопа LND (петлевого нейтрализующего детерминанта), защитного антигена *B. anthracis*. По данным разработчиков, этот прототип вакцины обеспечивал практически полную защиту кроликов от ингаляционного заражения спорами штамма *B. anthracis* Ames.

Было отмечено, что такую кандидатную вакцину можно лиофилизировать и затем восстанавливать без потери эффективности, что решает одну из самых серьезных логистических проблем при ее использовании в экстремальных условиях. Предварительные исследования показали, что данная конструкция обладает иммуногенностью для кроликов после 2 инъекций, а введение иммунной кроличьей сыворотки мышам обеспечивает защиту от аэрозольного заражения *B. anthracis*. Хотя это и предварительные эксперименты, сам подход является перспективным, особенно учитывая положительные результаты по аэрозольному заражению.

Еще одна вакцина против сибирской язвы, близкая по конструкции с разработанной в ГНЦ ПМБ, – корейская вакцина Barythrax inj., первая в мире зарегистрированная вакцина на основе рекомбинантных антигенов. Она создана на базе не продуцирующего токсины штамма бактерий *Bacillus brevi*, используемого для производства протективного антигена, который служит ключевым фактором для формирования противосибиреязвенного иммунитета. Данный препарат был создан в результате 28 лет исследований с использованием технологии рекомбинантных белков, когда экспрессируются только определенные антигены посредством генетической рекомбинации, что значительно снижает риск побочных эффектов, связанных с токсинами.

Имеется сообщение, что производитель вакцин в США, компания Emergent BioSolutions, также разработала рекомбинантную белковую версию вакцины против сибирской язвы со сниженной

реактогенностью, однако до настоящего времени препарат не получил одобрения регулирующих органов.

Одно из перспективных направлений, которые мы предполагаем развивать в ближайшее время, – это использование самореплицирующихся РНК (self-amplifying (sa) RNA) для создания иммунитета против особо опасных бактериальных инфекций. Такие первичные разработки проведены в отношении создания иммунитета против чумы, когда были сконструированы срРНК, несущие гены капсульного антигена и V-антигена. Была использована субгеномная промоторная структура венесуэльского вируса энцефалита лошадей (стандартная технология для данных целей). Затем срРНК была заключена в липидную наночастицу, которая и использовалась для иммунизации. В результате получены положительные результаты по протективности на мышах. Это технология высокой сложности, но вполне реализуемая на современном уровне развития молекулярной биологии, в т.ч. в нашем центре, где имеется вся информация об иммунодоминантных антигенах бактериальных возбудителей особо опасных инфекций и большинство клонированных конструкций. Одним из основных преимуществ применения срРНК является то, что их можно получать в больших количествах, намного больших, чем структур специфических мРНК, что технологически и экономически оправдано при производстве. Но для реализации данного направления следует иметь в виду, что бактерии намного сложнее вирусов и введение срРНК, несущих 1–3 гена протективных антигенов, может не дать искомой защиты. В этой связи направление должно развиваться в сторону создание мультиплексных систем с наиболее сильными антигенами и/или их комбинациями.

Таким образом, выбранная тактика создания вакцин против сибирской язвы, реализуемая в ГНЦ ПМБ, отвечает современным направлениям в данной научной и прикладной области исследований, а также имеет выраженные перспективы для дальнейшего совершенствования получения вакцин, отличающихся высокой эффективностью и безопасностью.

Главный редактор, академик РАН И.А.Дятлов

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 8–16
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 8–16

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-8-16

Молекулярно-генетическая характеристика клебсиеллезного бактериофага KpS7 – нового представителя Т-четных фагов рода *Jiaodavirus*

В.А.Волкова, Е.А.Денисенко, В.М.Красильникова, А.А.Кисличкина, Н.В.Воложанцев

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Российская Федерация

Распространение множественно-резистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* (MDR-KP) представляет собой серьезную угрозу общественному здравоохранению. В связи с этим фаготерапия рассматривается как перспективная альтернатива борьбы с MDR-KP. В данном исследовании охарактеризован геном бактериофага KpS7 – нового представителя Т-четных фагов рода *Jiaodaviruse*, активного против клинических MDR-штаммов *K. pneumoniae*. Полный геном бактериофага состоит из линейной двухцепочечной ДНК длиной 167 663 пары нуклеотидов (GC-состав: 39,54%) и содержит 292 белок-кодирующие последовательности (CDS); при этом CDS составляют 95% генома. Предполагаемые функции определены для белков, кодируемых 115 CDS, организованных в функциональные модули, характерные для Т-четных бактериофагов: белки метаболизма нуклеиновых кислот (50 CDS), связанные с репликацией, рекомбинацией, репарацией и транскрипцией ДНК; структурные белки капсида и хвостового аппарата (46 CDS); белки, обеспечивающие упаковку ДНК в капсид (3 CDS), и белки с литическими свойствами (4 CDS). Дополнительно идентифицировано 12 белков бактериофагов с консервативным доменным профилем, функция которых не известна, и ряд гипотетических белков, составляющих в общей сложности 56%. В геноме фага KpS7 не выявлено генов, ассоциированных с лизогенией, устойчивостью к антибиотикам или бактериальной вирулентностью, что свидетельствует о безопасности использования бактериофага в качестве терапевтического средства.
Ключевые слова: Klebsiella pneumoniae, бактериофаг (фаг), геномный анализ, антибактериальная терапия

Для цитирования: Волкова В.А., Денисенко Е.А., Красильникова В.М., Кисличкина А.А., Воложанцев Н.В. Молекулярно-генетическая характеристика клебсиеллезного бактериофага KpS7 – нового представителя Т-четных фагов рода *Jiaodavirus*. Бактериология. 2026; 11(2): 8–16. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-8-16

Molecular genetic characteristics of the Klebsiella bacteriophage KpS7, a new member of the T-even phages of the genus *Jiaodavirus*

V.A.Volkova, E.A.Denisenko, V.M.Krasilnikova, A.A.Kislichkina, N.V.Volozhantsev

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Russian Federation

The spread of multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* (MDR-KP) strains poses a serious threat to public health. In this context, phage therapy is considered a promising alternative for combating MDR-KP. In this study, the genome of bacteriophage KpS7, a new representative of T-even phages of the genus *Jiaodavirus* active against clinical MDR strains of *K. pneumoniae*, was characterized. The complete genome of the bacteriophage consists of a linear double-stranded DNA molecule of 167,663 base pairs (GC content: 39.54%) and contains 292 protein-coding sequences (CDSs); CDSs constitute 95% of the genome. Putative functions were assigned to proteins encoded by 115 CDSs, which are organized into functional modules typical of T-even bacteriophages: nucleic acid metabolism proteins (50 CDSs) involved in DNA replication, recombination, repair, and transcription; structural proteins of the capsid and tail (46 CDSs); proteins involved in DNA packaging into the capsid (3 CDSs); and proteins with lytic properties (4 CDSs). Additionally, 12 bacteriophage proteins with a conserved domain profile but unknown function were identified, as well as a number of hypothetical proteins, constituting 56% of the total. No genes associated with lysogeny, antibiotic resistance, or bacterial virulence were detected in the genome of phage KpS7, indicating its safety as a therapeutic agent.
Key words: Klebsiella pneumoniae, bacteriophage (phage), genomic analysis, antibacterial therapy

Для корреспонденции:

Воложанцев Николай Валентинович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 36-0147
E-mail: nikvol@obolensk.org
ORCID: 0000-0003-4667-1451

Статья поступила 19.03.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Nikolay V. Volozhantsev, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Molecular Microbiology, Federal State Scientific Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow region, 142279, Russian Federation
Phone: (4967) 36-01-47
E-mail: nikvol@obolensk.org
ORCID: 0000-0003-4667-1451

The article was received 19.03.2026, accepted for publication 30.06.2026

For citation: Volkova V.A., Denisenko E.A., Krasilnikova V.M., Kislichkina A.A., Volozhantsev N.V. Molecular genetic characteristics of the Klebsiella bacteriophage KpS7, a new member of the T-even phages of the genus *Jiaodavirus*. Bacteriology. 2026; 11(2): 8–16. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-8-16

Согласно оценкам Всемирной организации здравоохранения, распространение устойчивых к антибиотикам микроорганизмов является одной из наиболее критических угроз, сопряженной со снижением терапевтической эффективности противомикробных препаратов и, как следствие, с увеличением уровня летальности среди людей и животных. В клинической микробиологии ключевое значение имеют представители группы ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter* spp.), среди которых выделяются представители рода *Klebsiella*, характеризующиеся значительным уровнем устойчивости к антибиотикам, приобретенным за счет горизонтального переноса мобильных генов резистентности [1]. Инфекции, вызванные множественно-резистентными *K. pneumoniae* (MDR-KP), в т.ч. штаммами, продуцирующими карбапенемазы и β-лактамазы расширенного спектра действия, имеют высокие показатели заболеваемости и смертности, а применяемая в последние годы комбинированная антибиотикотерапия таких инфекций не всегда дает удовлетворительные результаты, что подчеркивает необходимость исследования и разработки более эффективных подходов [2, 3].

В контексте распространения MDR-KP фаготерапия позиционируется как потенциальная альтернатива современным стратегиям противомикробной химиотерапии [4, 5]. Исследования, проведенные в последнее десятилетие, подтверждают безопасность и терапевтическую эффективность фаготерапии, особенно при инфекциях, не поддающихся лечению стандартными антибиотиками, включая патологии дыхательных путей, раневые инфекции и инфекции мочевыводящих путей [6–9].

Для разработки эффективных фаговых препаратов, способных бороться с бактериальными инфекциями, большое значение имеют исследования, направленные на изучение структурных и функциональных особенностей генома бактериофага. Геномный анализ является мощным инструментом для идентификации и характеристики генов, кодирующих литические ферменты (эндолизины), разрушающие клеточную стенку бактерий, или полисахарид-деполимеризующие ферменты (деполимеразы), разрушающие капсулы бактерий и биопленки. Кроме того, знание геномной структуры позволяет выявлять нежелательные гены, ответственные за лизогению и процесс интеграции фаговой ДНК в бактериальный геном, а также гены, кодирующие белки, которые могут вызывать негативные побочные эффекты при фаготерапии [10–12].

Т-четные фаги – одна из наиболее обширных и хорошо охарактеризованных групп хвостатых вирусов, поражающих бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, что делает их ключевыми в регуляции бактериальных популяций и перспективными для терапии. Перспективность этих фагов обусловлена их высокой литической активностью, способностью инфицировать широкий круг патогенных энтеробактерий, включая клинически значимые виды Klebsiella, а также отсутствием потенциально опасных генов и возможностью генетической модификации для повышения их активности и безопасности [13–16].

Целью настоящей работы является структурная и функциональная аннотация генома бактериофага KpS7 – нового представителя Т-четных фагов рода *Jiaodavirus*, активного против MDR-штаммов *K. pneumoniae*.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы и условия их выращивания

В работе использовали 235 клинических штаммов *K. pneumoniae* из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур «ГКПМ-Оболенск». Бактериальные культуры выращивали в жидкой питательной среде «ГРМ-бульон» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) и на плотной питательной среде «ГРМ-агар» (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) при температуре 37°С в течение 24–48 ч.

Определение литической активности бактериофага KpS7

Для размножения фага использовали штамм *K. pneumoniae* KPB1674 (ГКПМ-Оболенск: B-7934). Культуру штамма-хозяина выращивали в жидкой питательной среде «ГРМ-бульон» с аэрацией при температуре 37°С до оптической плотности OD600 = 0,3; вносили препарат фага при кратности заражения MOI = 0,1 и культивировали до просветления бактериальной культуры. Для удаления клеточного дебриса к смеси добавляли хлороформ и центрифугировали 5 мин при 13 000 g. Титр бактериофага определяли методом агаровых слоев по Грациа.

Спектр литического действия бактериофага (круг хозяев) определяли капельным методом с определением эффективности бляшкообразования [17], которую рассчитывали как отношение количества бляшкообразующих единиц (БОЕ) фага на исследуемом штамме к количеству БОЕ на штамме-хозяине KPB1674.

Выделение и секвенирование фаговой ДНК

ДНК бактериофага выделяли методом фенол-хлороформной экстракции как описано ранее [17]. Секвенирование ДНК фага проводили на платформе Ion Torrent PGM (Life Technologies, Inc., США) с технологией сборки генома Unicycler v.0.4.7. Корректность сборки генома верифицировали с использованием программы SeqMan NGen DNAStar (США).

Биоинформатический анализ данных

Белок-кодирующие последовательности ДНК (CDS) и гены тРНК определяли с помощью биоинформатических инструментов автоматизированного сервиса RAST (Rapid

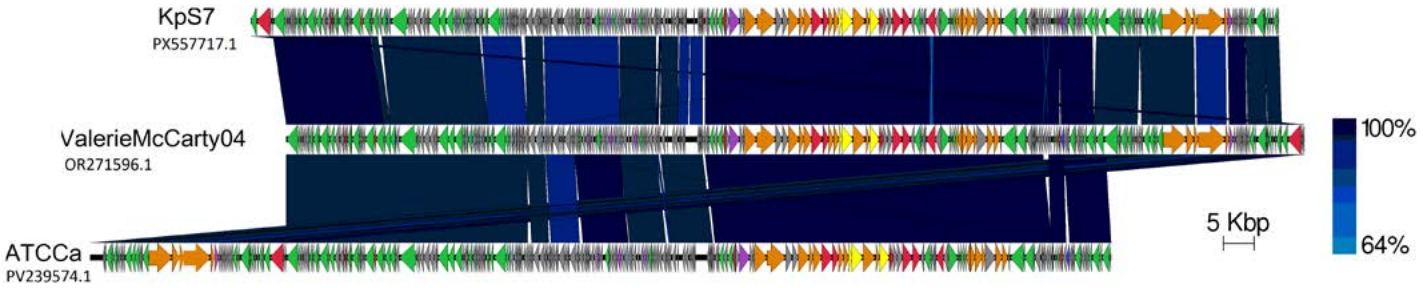


Рис. 1. **Сравнение полных геномов бактериофага KpS7 и близкородственных фагов ValerieMcCarty04 и ATCCa.**
Fig. 1. ***Comparison of the complete genomes of bacteriophage KpS7 and closely related phages ValerieMcCarty04 and ATCCa.***

Annotation using Subsystem Technology) [18]. Сравнительный анализ белковых и нуклеотидных последовательностей, уточнение предсказанных функций белковых продуктов и выявление гомологов осуществляли с помощью программных ресурсов NCBI BLAST [19]. Сравнение и визуализацию геномов родственных фагов проводили с использованием программы Easyfig [20] при нуклеотидной идентичности, превышающей 64%. Для предсказания трехмерной структуры белков и обнаружения эволюционно родственных белков на основе структурного сходства использовали HHpred-анализ [21]. Таксономическое позиционирование и филогенетическую реконструкцию проводили на основании tBLASTx-анализа полных геномов бактериофагов с построением протеомного дерева на сайте ViPTree (http://www.genome.jp/viptree) [22] и методом полногеномного BLASTn-анализа с использованием ресурсов сайта NCBI Virus (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/virus/vssi/#/) и программы MEGA7 [23].

Результаты исследования и их обсуждение

Спектр литической активности фага KpS7

Бактериофаг KpS7 выделен из образца сточных вод методом обогащения с использованием штаммов *K. pneumoniae* разных капсульных типов и размножен на бактериальном штамме *K. pneumoniae* KPB1674 (ГКПМ-Оболенск: B-7934; сиквенс тип: ST11; капсульный тип: K24). На бактериальном газоне этого штамма фаг KpS7 образует мелкие негативные колонии диаметром ~1 мм.

При изучении спектра литической активности бактериофага с использованием 235 клинических штаммов *K. pneumoniae* разных генетических групп было показано, что фаг лизирует 15% штаммов с эффективностью бляшкообразования от 0,01 до 1,0, что свидетельствует о широком круге хозяев фага среди штаммов *K. pneumoniae*. На бактериальных газонах еще 17% штаммов при нанесении фага KpS7 отмечено формирование мутных нетитруемых пятен, что, вероятно, связано в этих случаях с обратимой адсорбцией фага без продуктивной инфекции.

В ходе проведенных экспериментов не выявлено избирательной специфичности фага к штаммам *K. pneumoniae* какого-либо одного капсульного типа, O-серотипа или сиквенс-типа. Активность фага отмечена по отношению к отдельным штаммам разных капсульных типов, включая K1, K2, K3, K22, K23, K24, K27, K28, K38, K39, K47, K57, K64, K74, KL108, и O-серотипов (O2a, O2afg, O3, O4, O5), что предполагает механизмы заражения бактериальных клеток, не связанные со строгим распознаванием фагом поверхностных K- или O-антигенов с использованием деполимераз. Вместе с тем следует отметить, что фаг KpS7 проявляет высокую эффективность по отношению к штаммам *K. pneumoniae* капсульного типа K24: лизирует 7 из 7 имеющихся в коллекции штаммов данного типа.

Сравнительный генетический и филогенетический анализ генома KpS7

ДНК бактериофага KpS7 была секвенирована по технологии IonTorrent, собрана в единый контиг (средняя величина покрытия 30×) размером 167 663 пары оснований (GC-состав: 39,54%), аннотирована и депонирована в базу данных GenBank (код доступа: PX557717).

Как показал BLASTn-анализ с использованием базы нуклеотидных последовательностей core_nt, геном фага KpS7 имеет высокую степень идентичности (96–98% при покрытии 97–98%) с некоторыми клебсиеллезными бактериофагами рода *Jiaodavirus*, в частности, *Klebsiella* phage ValerieMcCarty04 (GenBank: OR271596.1) [15] и *Klebsiella* phage ATCCa (GenBank: PV239574.1) (рис. 1).

Для подтверждения таксономической принадлежности и определения эволюционной взаимосвязи фага KpS7 с другими ДНК-фагами был проведен комплексный биоинформатический анализ с использованием сервиса ViPTree (Virus Proteomic Tree) и ресурсов сайта NCBI Virus. В первом случае для сравнения использовали референсные геномы 650 бактериофагов разных семейств из базы данных RefSeq, идентифицированных в соответствии с официальной классификацией ICTV, во втором – полные геномы 48 фагов подсемейства *Tevenvirinae* из GenBank.

Результаты протеомного ViPTree-анализа показали, что фаг KpS7 является представителем семейства *Straboviridae* и входит в обособленный кластер, сформированный клебсиеллезными фагами рода *Jiaodavirus* (рис. 2). Филогенетический BLASTn-анализ полных геномов T-четных фагов (*Tevenvirinae*) семейства *Straboviridae* с выборкой по базе данных GenBank также показал, что бактериофаг KpS7 располагается на одной ветви филогенетического дерева с фагами, отнесенными к роду *Jiaodavirus* (рис. 3). На основании проведенного анализа можно заключить, что по своим генетическим характеристикам бактериофаг KpS7 является типичным представителем рода *Jiaodavirus* подсемейства *Tevenvirinae* семейства *Straboviridae*. Подсемейство *Tevenvirinae* – относительно новая таксономическая группа, в которую предложено включать крупные T-четные (T-even) ДНК-фаги, одним из наиболее изученных представителей которых является хорошо известный бактериофаг T4 [24].

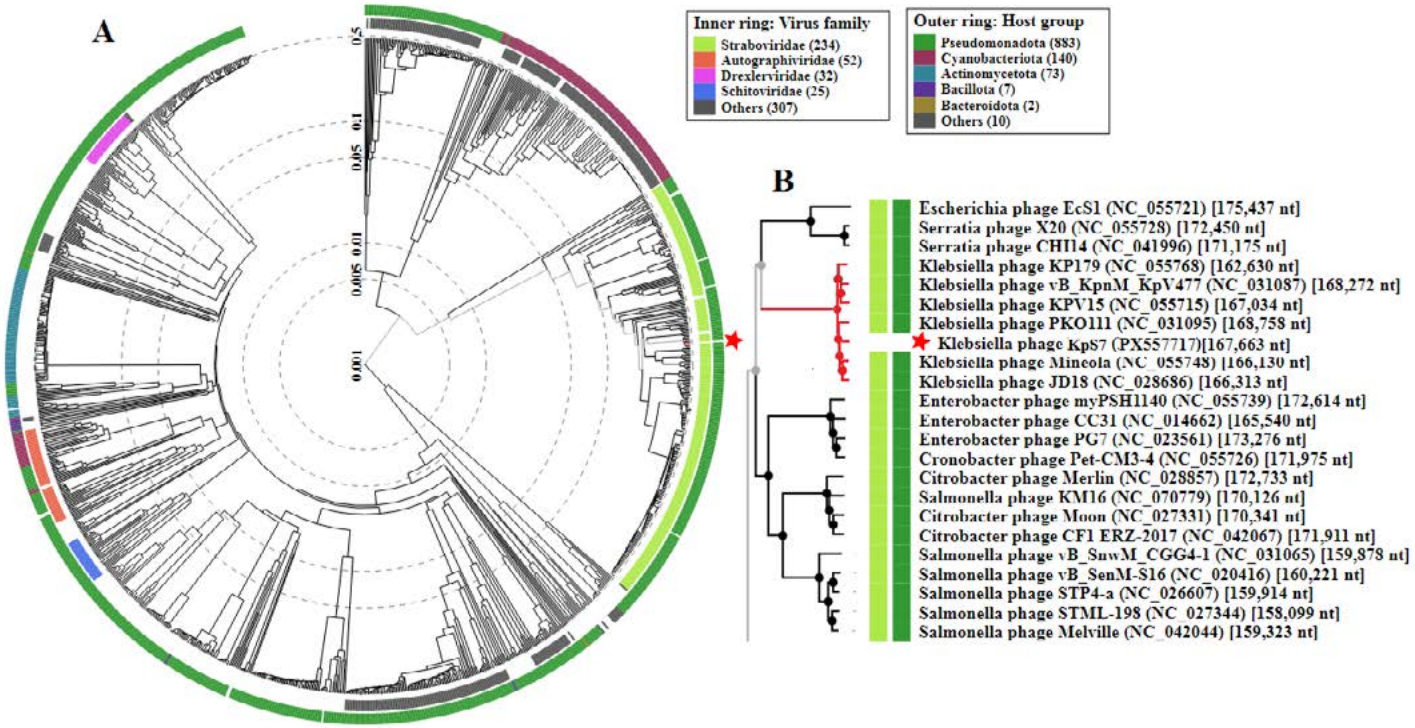


Рис. 2. **ViPTree-анализ геномов фага KpS7 и родственных фагов.**
(А) Протеомное дерево, построенное с использованием референсных геномов 650 фагов (внешнее и внутреннее кольца указывают на группу бактерий-хозяев и семейство вирусов соответственно; светло-зеленый фрагмент – фаги семейства *Straboviridae*). (В) Увеличенный фрагмент протеомного дерева, содержащий родственные фаги подсемейства *Tevenvirinae*. Красным цветом отмечена ветвь, содержащая фаги рода Jiaodavirus; бактериофаг KpS7 отмечен звездочкой.
Fig. 2. ***ViPTree analysis of the genomes of phage KpS7 and related phages.***
(A) Proteome tree constructed using the reference genomes of 650 phages (the outer and inner rings indicate the bacterial host group and virus family, respectively; the light green fragment indicates phages of the family Straboviridae). (B) Enlarged fragment of the proteome tree containing related phages of the subfamily Tevenvirinae. The branch containing phages of the genus Jiaodavirus is marked in red; bacteriophage KpS7 is marked with an asterisk.

Структурная и функциональная аннотация генома фага KpS7

В геноме бактериофага KpS7 определены 292 кодирующие последовательности (CDS) – потенциальные гены, кодирующие полипептиды размером от 29 аминокислотных остатков (гипотетический белок, CDS8) до 1476 а.о. (белок хвостовой фибриллы, CDS269). В общей структуре генома CDS составляют 95%.

На основании сходства нуклеотидных последовательностей ДНК и предсказанных полипептидных продуктов с данными из референсных баз данных определены функции для 115 из 292 продуктов CDS фага KpS7. При этом значительная часть генома (165 CDS, или 56%) кодирует гипотетические белки с неустановленными функциями.

Предполагаемые функции определены для белков, кодируемых 115 CDS, которые организованы в отдельные функциональные группы (модули), характерные для Т4-подобных бактериофагов. Это белки метаболизма нуклеиновых кислот (50 CDS), связанные с репликацией, рекомбинацией, репарацией и транскрипцией ДНК; структурные белки капсида и хвостового аппарата (46 CDS); белки, обеспечивающие упаковку ДНК в капсид (3 CDS), и белки с литическими свойствами (4 CDS) Дополнительно идентифицировано 12 белков бактериофагов с консервативным доменным профилем, функция которых на данный момент не установлена. Структура генома фага KpS7 и предсказанные функции кодируемых продуктов представлены на рис. 4.

Наиболее представительным в геноме бактериофага является модуль метаболизма нуклеиновых кислот. Группа генов, ответственных за репликацию ДНК фага KpS7, включает гены, кодирующие ДНК-полимеразу (CDS43), праймазу (CDS28), хеликазу (CDS204, CDS205), топоизомеразу (CDS283), нуклеазы и другие вспомогательные белки, координирующие синтез ведущей и отстающей нитей ДНК. Помимо общей организации генома, порядок и состав генов репликации KpS7 напоминают таковые у фага Т4 и других Т-четных фагов, геном которых кодирует все необходимые белки для репликации вирусной ДНК внутри инфицированной клетки [24]. Связь генома KpS7 с фагами *Tevenvirinae*, в т.ч. фагом Т4, на уровне модуля репликации подтверждает их эволюционное родство и общие механизмы функционирования. Механизм репликации бактериофага Т4 – это одна из наиболее хорошо охарактеризованных систем репликации ДНК, изучение которой позволило внести огромный вклад в понимание общих механизмов репликации ДНК у всех живых организмов [25].

Транскрипционный аппарат фага KpS7 не содержит собственной РНК-полимеразы (RNAP), что свидетельствует, так же как в случае с Т4-фагами, о его зависимости от РНК-полимеразы бактерии-хозяина. В геноме KpS7 выявлены гены, продукты которых модифицируют бактериальную РНК-полимеразу; белки-активаторы транскрипции, ς-фактор и анти-ς-фактор, белки, участвующие в определении раннего и позднего распознавания промоторов. Установлено, что CDS49 бактериофага KpS7 является аналогом гена *rpbA* фага Т4, кодирующего белок RpbA, который связывается с АДФ-рибозилированной бактериальной РНК-полимеразой и модулирует ее функцию, обеспечивая преимущественное

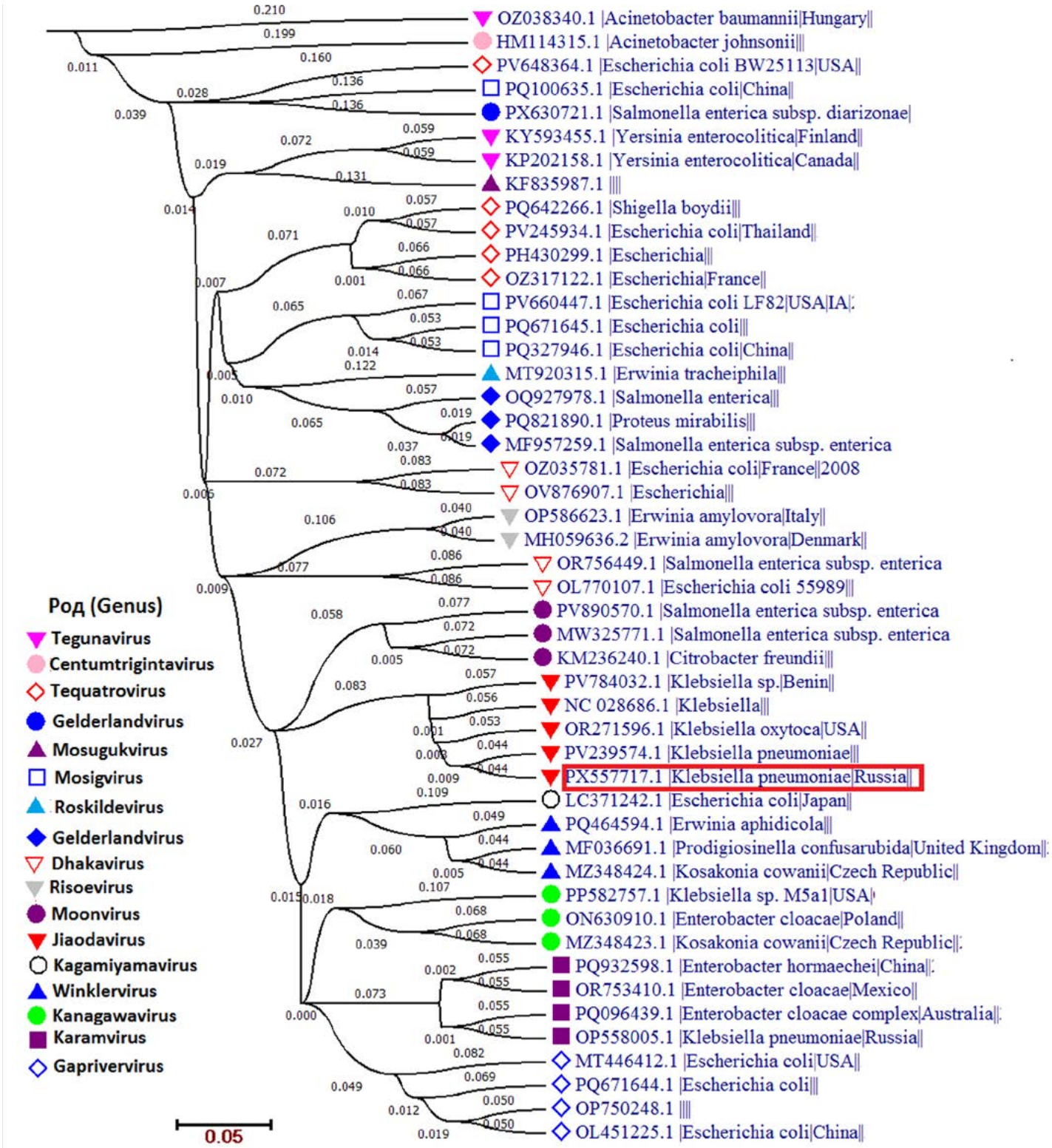


Рис. 3. **Филогенетическое дерево, построенное на основании BLASTn-анализа полных геномов фагов подсемейства *Tevenvirinae* семейства *Straboviridae*. Бактериофаги обозначены в соответствии с номером GenBank и видом бактерии-хозяина. Фаг KpS7 выделен красным прямоугольником.**

*Fig. 3. **Phylogenetic tree constructed based on BLASTn analysis of the complete genomes of phages of the Tevenvirinae subfamily. Bacteriophages are designated according to GenBank numbers and host bacterial species. Phage KpS7 is highlighted with a red rectangle.***

связывание с промоторами вирусного генома [24]. Продукт гена CDS58 определен как ς-субъединица RNAP и по данным BLASTp-анализа соответствует небольшому, сильно дивергентному белку gp55 фага T4. Этот представитель семейства ς-белков является одним из ключевых белков, участвующих в регуляции транскрипции генов у бактериофага T4; без него РНК-полимераза не может эффективно запускать транскрипцию поздних генов фага [26].

Предсказаны функции по крайней мере еще двух белков транскрипционного аппарата фага KpS7, кодируемых



Рис. 4. **Структура генома фага KpS7 и предсказанные функции кодируемых продуктов.**
Цифрами обозначены гены и кодируемые продукты в соответствии с номерами CDS в аннотации GenBank: PX557717. Гены и соответствующие белки одной функциональной группы обозначены одним цветом.
Fig. 4. ***The KpS7 phage genome structure and predicted functions of the encoded products.***
Numbers indicate genes and encoded products according to their CDS numbers in the GenBank annotation. Genes and corresponding proteins of the same functional group are indicated in the same color.

CDS244 и CDS263. CDS244, по-видимому, является аналогом раннего гена *alc* бактериофага T4, кодирующего фактор терминации транскрипции (transcription termination factor). Известно, что белок Alc фага T4 действует как сайт-специфический фактор терминации, участвующий в прекращении транскрипции бактериальной ДНК, содержащей цитозин, но не ДНК T4, которая содержит 5-гидроксиметилцитозин [27]. В пределах CDS263 фага KpS7 выявлены консервативные последовательности, характерные для коактиваторов поздней транскрипции ДНК хвостатых фагов, в частности гена фага T4, кодирующего белок-коактиватор gp33 [28].

Система упаковки ДНК KpS7 представлена генами, кодирующими портальный белок (CDS190), большую (CDS187) и малую (CDS186) субъединицы терминазы. Известно, что большая терминаза (TerL) фага T4 функционирует как АТФазный мотор, обеспечивающий перемещение ДНК в капсид и осуществляющий расщепление конкатемерной ДНК; малая терминаза (TerS) распознает фаговый геном и регулирует АТФазную активность большой субъединицы; портальный белок образует додекамерную кольцевую структуру, обеспечивая место связывания для комплекса терминазы и канал для проникновения ДНК [29].

При сборке генома KpS7 было отмечено, что нуклеотидные последовательности ДНК фага закольцовываются в единый контиг без четко разделенных областей с увеличенным покрытием, что указывает на наличие концевых избыточных последовательностей в молекуле ДНК, которая оказывается немного больше фактического генома. Формирование «избыточных» ДНК без четких, стабильно увеличенных областей покрытия является прямым следствием механизма упаковки по принципу полного заполнения головки (headful packaging), характерного для T4-подобных фагов [30, 31]. В фаге T4 упаковка ДНК из конкатемера может начинаться с нескольких участков, но предпочтительный сайт находится в 3'-области гена terS, кодирующего малую субъединицу терминазы, в пределах 24-нуклеотидных последовательностей: 5'-GAGGCTCAAGAAGCTCGTGAGAAG [30]. Аналогичная последовательность выявлена в 3'-области гена *terS* фага KpS7 (координаты генома: 96334–96357), в которой 20 из 24 нуклеотидов идентичны соответствующей области фага T4, что подтверждает сходный с T4 механизм упаковки ДНК и предполагает участие аналогичных последовательностей в качестве предпочтительных сайтов инициации упаковки ДНК фага KpS7. Отметим, что все 24 нуклеотида этой области полностью идентичны у фага KpS7 и близкородственных фагов ValerieMcCarty04 (GenBank: OR271596.1) и ATCCa (GenBank: PV239574.1).

Биоинформатический анализ выявил 4 CDS, кодирующих белки, определяющие литическую активность фага KpS7: холин (CDS271), лизоцимоподобный белок (CDS125), T4-подобный лизоцим (CDS134) и белок базальной пластинки с литическим доменом (CDS172). Предсказанный кластер генов, кодирующих холин и лизоцим, определяет возможный молекулярный механизм, посредством которого фаг KpS7 лизирует инфицированные бактерии. В процессе лизиса бактериальной клетки холины индуцируют образование пор во внутренней цитоплазматической мембране бактерии, что позволяет эндолизинам проникать в периплазматическое пространство и осуществлять эффективную гидролитическую деградацию пептидогликанового слоя клеточной стенки [32, 33]. По-видимому, лизоцимоподобный белок (CDS125) и/или T4-подобный лизоцим (CDS134) фага KpS7 играют роль эндолизинов, обеспечивая разрушение клеточной стенки бактерии-хозяина в конце литического цикла, приводящее к высвобождению вирусных частиц.

По данным HHpred-анализа белок фага KpS7, кодируемый CDS172, имеет выраженную структурную гомологию с белком Gp5 центрального шипа базальной пластинки (baseplate) фага T4 (HHpred вероятность = 100%, E-value = 8,8e-55). Этот белок имеет трехдоменную структуру, в которой средний домен выполняет литическую функцию (локально разрушает пептидогликан клеточной стенки), функционируя как «клеточно-прокалывающее устройство», обеспечивающее проникновение фаговой ДНК в бактериальную клетку [33].

Важной характеристикой бактериофага как терапевтического агента является его специфичность, определяемая на молекулярном уровне взаимодействием рецепторных белков фага с поверхностными рецепторами бактериальной клетки. Основными белками, определяющими специфичность фага T4, являются белок дистальной субъединицы длинной хвостовой фибриллы (gp37), обладающий гипервариабельными сегментами, которые непосредственно взаимодействуют с рецепторами поверхности бактерии-хозяина (липополисахаридом *Escherichia coli* B или белком OmpC), и адгезин gp38, который, как полагают, связывается с дистальным концом длинной хвостовой фибриллы (LTF) и/или катализирует сборку LTF [34, 35]. По данным BLASTp- и HHpred-анализов аналогами белков gp37 и gp38 у фага KpS7 являются белки L-образной хвостовой фибриллы и адгезин хвостовой фибриллы, кодируемые CDS269 и CDS270 соответственно.

Кроме белок-кодирующих генов, в геноме фага KpS7 идентифицирован кластер генов, кодирующих 17 тРНК для 15 различных аминокислот (Arg, Asn, Asp, Gln, Gly, His, Ile, Leu, Lys, Met, Pro, Ser, Thr, Trp, Tyr). Наличие собственных тРНК у фага может свидетельствовать об адаптивном механизме, направленном на оптимизацию эффективности синтеза фаговых белков за счет согласования с особенностями трансляционного аппарата бактерии-хозяина [36].

В геноме фага KpS4 не обнаружены нуклеотидные последовательности, кодирующие белки, ответственные за лизогенный путь развития фага, такие как сайт-специфические интегразы и репрессоры. Также не выявлены гены, ассоциированные с устойчивостью к антибиотикам и бактериальной вирулентностью.

Заключение

Выделен и охарактеризован новый бактериофаг KpS7, активный против клинических штаммов *K. pneumoniae* разных генетических групп.

На основании результатов геномного и филогенетического анализов установлена принадлежность бактериофага к роду *Jiaodaviruse*. По современной классификации вирусов фаги этого рода относятся к подсемейству *Tevenvirinae* семейства *Straboviridae*, которое включает один из наиболее изученных вирусов – эшерихиозный бактериофаг T4.

Показано, что фаг KpS7 имеет типичную организацию генома, характерную для Т4-подобных фагов, которая представляет собой высоко скоординированную систему, предназначенную для быстрого захвата механизмов бактерии-хозяина, с акцентом на эффективную репликацию собственной ДНК, деградацию ДНК хозяина и специализированное управление бактериальной РНК. Такая организация генома фага KpS7 свидетельствует о его высоком потенциале терапевтического применения.

Отсутствие в геноме фага KpS7 генов, ассоциированных с лизогенией, устойчивостью к антибиотикам или бактериальной вирулентностью, указывает на строго литический путь развития фага и сниженный риск горизонтального переноса генов, что крайне важно для использования фага в качестве терапевтического средства.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Funding

The work was supported by the Sectoral Scientific Program of the Rospotrebnadzor

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

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 this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература / References

1. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical Relevance of the ESKAPE Pathogens. Expert Rev Anti Infect Ther. 2013;11:297-308. DOI: 10.1586/ERI.13.12
2. Tumbarello M, Trecarichi EM, De Rosa FG, Giannella M, Giacobbe DR, Bassetti M, et al. Infections Caused by KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae*: Differences in Therapy and Mortality in a Multicentre Study. J Antimicrob Chemother. 2015;70:2133-43. DOI: 10.1093/JAC/DKV086
3. Bassetti M, Righi E, Carnelutti A, Graziano E, Russo A. Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Challenges for Treatment, Prevention and Infection Control. Expert Rev Anti Infect Ther. 2018;16:749-61. DOI: 10.1080/14787210.2018.1522249
4. Комисарова ЕВ, Красильникова ВМ, Воложанцев НВ. Бактериофаги, фаговые полисахарид-деполимеразы и возможности их использования для лечения бактериальных инфекций. Бактериология. 2019;4(4):7-14. / Komisarova EV, Krasilnikova VM, Volozhantsev NV. Bacteriophages, phage polysaccharide depolymerases and the possibility of their use for the treatment of bacterial infections. Bacteriology. 2019;4(4):7-14. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-4-7-14 (In Russian).
5. Herridge WP, Shibu P, O'Shea J, Brook TC, Hoyles L. Bacteriophages of *Klebsiella* spp., their diversity and potential therapeutic uses. J Med Microbiol. 2020 Feb;69(2):176-194. DOI: 10.1099/jmm.0.001141
6. Dedrick RM, Smith BE, Cristinziano M, Freeman KG, Jacobs-Sera D, Belessis Y, et al. Phage Therapy of *Mycobacterium* Infections: Compassionate Use of Phages in 20 Patients With Drug-Resistant Mycobacterial Disease. Clin Infect Dis. 2023 Jan 6;76(1):103-112. DOI: 10.1093/cid/ciac453
7. Petrovic Fabijan A, Lin RCY, Ho J, Maddocks S, Ben Zakour NL, Iredell JR. Westmead Bacteriophage Therapy Team. Safety of bacteriophage therapy in severe *Staphylococcus aureus* infection. Nat Microbiol. 2020 Mar;5(3):465-472. DOI: 10.1038/s41564-019-0634-z
8. Schooley RT, Biswas B, Gill JJ, Hernandez-Morales A, Lancaster J, Lessor L, et al. Development and Use of Personalized Bacteriophage-Based Therapeutic Cocktails To Treat a Patient with a Disseminated Resistant *Acinetobacter baumannii* Infection. Antimicrob Agents Chemother. 2017 Sep 22;61(10):e00954-17. DOI: 10.1128/AAC.00954-17
9. Ibrahim R, Aranjani JM, Kalikot Valappil V, Nair G. Unveiling the potential bacteriophage therapy: a systematic review. Future Sci OA. 2025 Dec;11(1):2468114. DOI: 10.1080/20565623.2025.2468114
10. Klumpp J, Fouts DE, Sozhamannan S. Bacteriophage functional genomics and its role in bacterial pathogen detection. Brief Funct Genomics. 2013 Jul;12(4):354-65. DOI: 10.1093/bfgp/elt009
11. Banerjee B, Halder S, Kumar S, Chaddha M, Ali R, Mohite R, et al. Genomic insights into bacteriophages: a new frontier in AMR detection and phage therapy. Brief Funct Genomics. 2025 Jan 15;24:elaf011. DOI: 10.1093/bfgp/elaf011
12. Abdraimova N, Shitikov E, Kornienko M. The Role of Genomics in Advancing and Standardising Bacteriophage Therapy. Antibiotics (Basel). 2026 Jan 4;15(1):55. DOI: 10.3390/antibiotics15010055
13. Bourdin G, Schmitt B, Marvin Guy L, Germond JE, Zuber S, Michot L, et al. Amplification and purification of T4-like *Escherichia coli* phages for phage therapy: from laboratory to pilot scale. Appl Environ Microbiol. 2014;80(4):1469-76. DOI: 10.1128/AEM.03357-13
14. Weber-Dąbrowska B, Żaczek M, Łobocka M, Łusiak-Szelachowska M, Owczarek B, Orwat F, et al. Characteristics of Environmental *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* Bacteriophages and Their Therapeutic Applications. Pharmaceutics. 2023 Jan 28;15(2):434. DOI: 10.3390/pharmaceutics15020434
15. Lewis JM, Arens DK, Quaye A, Calvopina-Chavez DG, Jensen KT, Miller AK, et al. Genome sequences of two *Klebsiella* phages isolated from wastewater treatment samples that infect a clinical *Klebsiella* isolate. Microbiol Resour Announc. 2025 Jan 16;14(1):e0083623. DOI: 10.1128/MRA.00836-23

16. Duong MM, Carmody CM, Ma Q, Peters JE, Nugen SR. Optimization of T4 phage engineering via CRISPR/Cas9. Sci Rep. 2020;10(1):18229. DOI: 10.1038/s41598-020-75426-6
17. Solovieva EV, Myakinina VP, Kislichkina AA, Krasilnikova VM, Verevkin VV, Mochalov VV, et al. Comparative genome analysis of novel Podoviruses lytic for hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* of K1, K2, and K57 capsular types. Virus Res. 2018 Jan 2;243:10-18. DOI: 10.1016/j.virusres.2017.09.026
18. Aziz RK, Bartels D, Best AA, DeJongh M, Disz T, Edwards RA, et al. The RAST Server: Rapid Annotations using Subsystems Technology. BMC Genomics. 2008;9:75. DOI: 10.1186/1471-2164-9-75
19. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. J Mol Biol. 1990;215:403-410. DOI: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2
20. Sullivan MJ, Petty NK, Beatson SA. Easyfig: a genome comparison visualizer. Bioinformatics. 2011 Apr 1;27(7):1009-10. DOI: 10.1093/bioinformatics/btr039
21. Söding J, Biegert A, Lupas AN. The HHpred interactive server for protein homology detection and structure prediction. Nucleic Acids Res. 2005 Jul 1;33(Web Server issue):W244-8. DOI: 10.1093/nar/gki408
22. Nishimura Y, Yoshida T, Kuronishi M, Uehara H, Ogata H, Goto S. ViPTree: the viral proteomic tree server. Bioinformatics. 2017 Aug 1;33(15):2379-2380. DOI: 10.1093/bioinformatics/btx157
23. Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. Mol Biol Evol. 2016 Jul;33(7):1870-4. DOI: 10.1093/molbev/msw054
24. Miller ES, Kutter E, Mosig G, Arisaka F, Kunisawa T, Rüger W. Bacteriophage T4 genome. Microbiol Mol Biol Rev. 2003 Mar;67(1):86-156, table of contents. DOI: 10.1128/MMBR.67.1.86-156.2003
25. Spiering MM, Benkovic SJ. The bacteriophage T4 replisome: a model system for understanding DNA replication mechanisms. EcoSal Plus. 2025 Dec 16;13(1):eesp00102025. DOI: 10.1128/ecosalplus.esp-0010-2025
26. Wong K, Kassavetis GA, Leonetti JP, Geiduschek EP. Mutational and functional analysis of a segment of the sigma family bacteriophage T4 late promoter recognition protein gp55. J Biol Chem. 2003 Feb 28;278(9):7073-80. DOI: 10.1074/jbc.M211447200
27. Kashlev M, Nudler E, Goldfarb A, White T, Kutter E. Bacteriophage T4 Alc protein: a transcription termination factor sensing local modification of DNA. Cell. 1993 Oct 8;75(1):147-54.
28. Nechaev S, Kamali-Moghaddam M, André E, Léonetti JP, Geiduschek EP. The bacteriophage T4 late-transcription coactivator gp33 binds the flap domain of Escherichia coli RNA polymerase. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Dec 14;101(50):17365-70. DOI: 10.1073/pnas.0408028101
29. Rao VB, Fokine A, Fang Q, Shao Q. Bacteriophage T4 Head: Structure, Assembly, and Genome Packaging. Viruses. 2023 Feb 14;15(2):527. DOI: 10.3390/v15020527
30. Lin H, Black LW. DNA Requirements In Vivo for Phage T4 Packaging. Virology. 1998;242:118-127. DOI: 10.1006/viro.1997.9019
31. Feiss M, Rao VB. The bacteriophage DNA packaging machine. Adv Exp Med Biol. 2012;726:489-509. DOI: 10.1007/978-1-4614-0980-9_22
32. Cahill J, Young R. Phage Lysis: Multiple Genes for Multiple Barriers. Adv Virus Res. 2019;103:33-70. DOI: 10.1016/bs.aivir.2018.09.003
33. Kanamaru S, Ishiwata Y, Suzuki T, Rossmann MG, Arisaka F. Control of bacteriophage T4 tail lysozyme activity during the infection process. J Mol Biol. 2005;346(4):1013-20. DOI: 10.1016/j.jmb.2004.12.042
34. Hashemolhosseini S, Montag D, Krämer L, Henning U. Determinants of receptor specificity of coliphages of the T4 family. A chaperone alters the host range. J Mol Biol. 1994 Aug 26;241(4):524-33. DOI: 10.1006/jmbi.1994.1529
35. Bartual SG, Garcia-Doval C, Alonso J, Schoehn G, van Raaij MJ. Two-chaperone assisted soluble expression and purification of the bacteriophage T4 long tail fibre protein gp37. Protein Expr Purif. 2010 Mar;70(1):116-21. DOI: 10.1016/j.pep.2009.11.005
36. van den Berg DF, Brouns SJJ. Phage tRNAs: decoding the enigma. Trends Microbiol. 2025 Oct;33(10):1121-1131. DOI: 10.1016/j.tim.2025.05.009

Информация о соавторах:

Волкова Вероника Александровна, стажер-исследователь отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Денисенко Егор Алексеевич, научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-2639-192X

Красильникова Валентина Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Кисличкина Ангелина Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-8389-2494

Information about co-authors:

Veronika A. Volkova, Intern, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Egor A. Denisenko, Researcher, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-2639-192X

Valentina M. Krasilnikova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Angelina A. Kislichkina, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Department of Collection Cultures, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-8389-2494

НОВОСТИ НАУКИ

Клетки кишечного эпителия сдерживают рост сальмонеллы, ограничивая доступ к микроэлементам

Установлено, что микроэлементы необходимы как патогенным микроорганизмам, так и их позвоночным хозяевам; в качестве защитной реакции организм хозяина может индуцировать дисбаланс концентрации ионов металлов (дефицит или токсический избыток). Определена роль белков семейства SLC11 во взаимодействии иммунной системы с патогеном, а также проведена оценка участия одного из их представителей, SLC11A2, в ингибировании сальмонеллы. Белок SLC11A2 ограничивает рост сальмонеллы в кишечнике путем снижения биодоступности ионов двухвалентного железа и марганца для данного патогена.

Norberg ES, Westerman TL, Cruz E, Bushman SD, Salogiannis J, Skaar EP, et al. SLC11A2 withholds divalent metals from Salmonella in the gut epithelium. Proc Natl Acad Sci U S A. 2026 Jun 30;123(26):e2532675123. DOI: 10.1073/pnas.2532675123

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-17-24

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 17–24
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 17–24

Генетическая характеристика мундтицина P436 и оценка штамма *Enterococcus mundtii* SCPM-O-B-8925 в качестве его промышленного продуцента

М.Г.Теймуразов, А.А.Абаимова, И.М.Коваленко, О.И.Тазина, А.А.Кисличкина

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Российская Федерация

В работе проведена оценка биологической безопасности штамма *Enterococcus mundtii* SCPM-O-B-8925, выделенного из респираторного тракта цыплят-бройлеров. С использованием полифазного подхода (MALDI-TOF MS, полимеразной цепной реакции и WGS) подтвержден таксономический статус штамма. Геномный анализ (NCBI WGS project JAIZFT01) выявил отсутствие приобретенных генов антибиотикорезистентности, факторов вирулентности, профагов и систем синтеза биогенных аминов, что подтверждает статус безопасности штамма. Установлено наличие полнофункционального оперона мундтицина P436 (*munA-munI-lanT*). Впервые для данного вида описан сложный биосинтетический локус RiPPs-пептида, включающий радикальную SAM-матуразу (BmbF) и структурный пре-пептид (34 а.о.), гомологичный системе синтеза редокс-кофактора микофактоцина. Сочетание доказанной безопасности, продукции бактериоцина класса IIa и уникального метаболического потенциала делает штамм SCPM-O-B-8925 перспективным кандидатом для разработки постбиотических препаратов и штаммом-продуцентом для получения биоконсерванта (мундтицина P436) для использования в пищевой промышленности.

Ключевые слова: Enterococcus mundtii, полногеномное секвенирование, мундтицин KS, мундтицин P436, микофактоцин, биобезопасность, биоконсервант, бактериоцин класса IIa, RiPPs, штамм-продуцент

Для цитирования: Теймуразов М.Г., Абаимова А.А., Коваленко И.М., Тазина О.И., Кисличкина А.А. Генетическая характеристика мундтицина P436 и оценка штамма *Enterococcus mundtii* SCPM-O-B-8925 в качестве его промышленного продуцента. Бактериология. 2026; 11(2): 17–24. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-17–24

Genetic characterization of mundticin p436 and evaluation of *Enterococcus mundtii* SCPM-O-B-8925 strain as it`s industrial producer

M.G.Teymurazov, A.A.Abaimova, I.M.Kovalenko, O.I.Tazina, A.A.Kislichkina

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Russian Federation

The study evaluates the biological safety of the strain *Enterococcus mundtii* SCPM-O-B-8925, isolated from the respiratory tract of broiler chicks. The taxonomic status of the strain was confirmed using a polyphasic approach (MALDI-TOF MS, PCR, and WGS). Genomic analysis (NCBI WGS project JAIZFT01) revealed an absence of acquired antibiotic resistance genes, virulence factors, prophages, and biogenic amine synthesis systems, confirming the safety of the strain. The presence of a fully functional mundycin R436 operon (*munA-munI-lanT*) was established., A complex biosynthetic locus for a RiPPs peptide was described for the first time for this species, including a radical SAM maturase (BmbF) and a structural pre-peptide (34 a.a.) homologous to the mycofactin redox cofactor synthesis system. The combination of proven safety, production of class IIa bacteriocins, and unique metabolic potential makes strain SCPM-O-B-8925 a promising candidate for the development of postbiotic preparations and as a strain-producer for obtaining a biopreservative (mundycin R436) for use in the food industry.

Key words: Enterococcus mundtii, whole-genome sequencing, mundticin KS, mundticin P436, mycofactocin, biosafety, biopreservative, class IIa bacteriocin, RiPPs, producer strain

For citation: Teymurazov M.G., Abaimova A.A., Kovalenko I.M., Tazina O.I., Kislichkina A.A. Genetic characterization of mundticin p436 and evaluation of *Enterococcus mundtii* SCPM-O-B-8925 strain as it`s industrial producer. Bacteriology. 2026; 11(2): 17–24. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-17-24

Для корреспонденции:

Теймуразов Марат Георгиевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
E-mail: teymurazov@obolensk.org
ORCID: 0000-0002-8635-8366

Статья поступила 14.05.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Marat G. Teymurazov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Antimicrobial Drugs, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Address: 24 "Quarter A" Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow region, 142279, Russian Federation
E-mail: teymurazov@obolensk.org
ORCID: 0000-0002-8635-8366

The article was received 14.05.2026, accepted for publication 30.06.2026

Бактериоцины – низкомолекулярные антимикробные пептиды, секретируемые бактериями для уничтожения, как правило, близкородственных видов в одной экологической нише с целью получения преимуществ в борьбе за питательные вещества. Род *Enterococcus* spp. является одним из наиболее продуктивных по количеству обнаруженных и охарактеризованных бактериоцинов. На сегодняшний день известно не менее 30 бактериоцинов, выделенных из энтерококков, включающих все 3 класса современной классификации [1–3].

Хорошая изученность известных энтероцинов, особенно класса IIa (PLB – педиоцин-подобные бактериоцины), облегчает задачу по доказательствам эффективности и безопасности полученного продукта. Один из представителей PLB – мундтицин, продуцируемый *Enterococcus mundtii*, слабо иммуногенный и нетоксигенный для человека и животных (мундтицины AT06, CRL35, CUGF08, KS [4–7], а также представленный в нашей работе мундтицин P436).

Бактериоцины PLB являются привлекательным объектом для использования в пищевой промышленности. Они не имеют цвета, вкуса и запаха, стабильны при низком pH, высокой температуре и в широком диапазоне концентраций солей [8, 9].

«Узким местом» внедрения бактериоцинов в практику в качестве биоконсервантов является их низкий выход при культивировании штаммов-продуцентов, который зачастую не превышает 1–2 мг/л, а последующая очистка уменьшает их концентрацию еще в несколько раз, что сводит на нет привлекательность их использования. Недавно нами была показана возможность значительного увеличения индукции мундтицина P436 (в 3 раза по сравнению с контролем) и последующей одностадийной очистки. Чистота полученного мундтицина составляла ~70% с выходом не менее 25 мг/л [10]. Мы считаем, что эти результаты позволят использовать мундтицин в промышленности за счет простоты технологии и увеличения индукции. Кроме того, подобная технология, очевидно, будет пригодна для всех энтероцинов подкласса IIa. Однако существует еще одна большая проблема, которую следует решить перед внедрением энтероцинов в практику, – оценить и убедиться в полной безопасности самого штамма-продуцента и продуктов его метаболизма.

Известно, что энтерококки не включены в список QPS (Qualified Presumption of Safety) Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (EFSA) [11], а также не имеют статуса GRAS [12]. Это обусловлено тем, что в первую очередь *Enterococcus faecalis* и *Enterococcus faecium* вызывают инфекции мочевыводящих путей, бактериемию, внутрибрюшные инфекции и эндокардит. Они являются третьим по распространенности внутрибольничным патогеном, вызывая 14% внутрибольничных инфекций в США и 5–20% внебольничных эндокардитов [13, 14]. Особую опасность представляют ванкомицин-резистентные штаммы и штаммы с множественной лекарственной устойчивостью [15].

EFSA предложила схему для принятия решения о безопасности пробиотического штамма [11, 16], включающую следующие пункты: 1) отсутствие резистентности к аминогликозидам, β-лактамам, гликопептидам, фениколам, тетрациклинам, ампициллину (≤2 мг/л); 2) отсутствие факторов вирулентности – aggregation substance protein (*asa1*), gelatinase (*gelE*), cytolysin (*cylA*), enterococcal surface proteins (*esp*), hyaluronidase (*hyl*), collagen adhesion protein (*ace*) и endocarditis antigens (*efaA*); 3) отсутствие токсинов – гемолитических и негемолитических эндотоксинов; 4) отсутствие биогенных аминов – фенилентиламина, гистамина, кадаверина, путресцина и триптамина.

Целью нашей работы являлась оценка безопасности штамма *E. mundtii* SCPM-O-B-8925 как возможного кандидата в штаммы-продуценты для использования полученного мундтицина в качестве биоконсерванта, а также генетическая характеристика локуса синтеза мундтицина P436.

Материалы и методы

Штаммы-продуценты

Штамм *E. mundtii* был выделен из подглазничных синусов птицы при проведении бактериологического исследования на сердечно-мозговом агаре. Полученный штамм был депонирован в музее ГНЦ ПМБ с присвоением номера SCPM-O-B-8925. Рабочие аликвоты штамма хранились в MRS-бульоне (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, Индия) с добавлением 30% глицерина при -70°C. Для экспериментов каждый раз использовались новые аликвоты штаммов, которые высевались на энтерококк-агар (HiMedia, Индия) «штрихом» до единичных колоний.

Видовая идентификация

Анализ штаммов методом масс-спектрометрии. Подготовка образцов проводилась по методике Хуммеля (Hummel). Экстракцию белков выполняли в соответствии с протоколом компании Bruker Daltonics GmbH (Германия). Также применялся метод прямого нанесения культуры на мишень [17]. Обобщение результатов проводилось с помощью программы FlexAnalysis (Bruker Daltonics GmbH, Германия).

Биохимическая идентификация. Использовали карты для идентификации энтерококков, стрептококков, стафилококков и других грамположительных микроорганизмов VITEK® 2 GP на приборе VITEK® 2 (BioMérieux, Франция). Также использовали EN-COCCUStest (Erba Lachema s.r.o., Чехия).

Антибиотикочувствительность

Определение чувствительности к антимикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом на агаре Мюллера–Хинтон в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов (CLSI, 2012). Штаммы тестировали на чувствительность к 15 антибиотикам различных классов: ванкомицин (10 мкг/диск), хлорамфеникол (30 мкг/диск), клиндамицин (10 мкг/диск), ко-тримоксазол (25 мкг/диск), линезолид (10 мкг/диск), амикацин (30 мкг/диск), вирджиниамицин (15 мкг/диск), тобрамицин (10 мкг/диск), тетрациклин (30 мкг/диск), стрептомицин (10 мкг/диск), ампициллин (10 мкг/диск) – все производства HiMedia (Индия); тейкопланин (– 30 мкг/диск), эритромицин (5 мкг/диск), ломефлоксацин (10 мкг/диск), пенициллин G (10 мкг/диск) – производства Bioanalyse (Турция). Анализы выполняли в двух повторах.

Полногеномное секвенирование

Образцы ДНК выделяли с использованием наборов DNeasy UltraClean/NoviPure Microbial Kits (QIAGEN, США). Полногеномное секвенирование проводили на приборе

Таблица 1. **Праймеры, использованные для ПЦР-детекции генов синтеза биогенных аминов**
*Table 1. **Primers used for PCR detection of biogenic amine synthesis genes***

Целевой ген / *Target gene*	Продукт (амин) / *Product (amine)*	Последовательность праймера (5' → 3') / *Primer sequence (5' → 3')*	Tm, °C	Продукт, п.н. / *Product, b.p.*	Ссылка / *Reference*
tyrDC	Тирамин	F: GAYATYATYGGYATYGGYTTYGAYAA R: TCRTCCATYTCRTTRTGRTGRTG	52	~1100	[26]
hdc	Гистамин	F: AGYATYTTYGGYTTYGAYGGY R: TCYTGRTGRAARTARTGRTG	52	~435	[26]
odc	Путресцин	F: GTYGAYMGYMGYTTYTTYTTYGA R: TCYTGRTGRAARTARTGRTG	52	~340	[27]
ldc	Кадаверин	F: GTYAAYGARGAYTAYYTIGAYGA R: GGYTCYTTYTGRAAITCYTTRTC	52	~800	[26]

MGISeq-2000 (MGI Tech Co., Ltd, Китай) в соответствии с инструкциями производителя. Библиотеки ДНК готовили с использованием набора MGIEasy FS DNA Library Prep Kit; секвенирование выполняли согласно протоколам производителя с набором MGI-Seq 2000RS High-throughput sequencing kit PE200. Единичные прочтения, полученные в результате секвенирования, собирали *de novo* без предварительной фильтрации в программе SPAdes v. 1.13.1 с настройками по умолчанию [18]. Аннотацию финальных сборок проводили с помощью сервиса NCBI Prokaryotic Genome Annotation Pipeline [19].

Биоинформатический анализ

Собранные геномы проверяли на наличие генов резистентности к антибиотикам с помощью биоинформатических инструментов ResFinder 4.1 и CARD [20]. Поиск генов вирулентности осуществляли в VirulenceFinder 2.0 (Center for Genomic Epidemiology) [21]. Гены бактериоцинов выявляли с помощью программы BAGEL4 [22]. Для видовой идентификации использовали значение средней идентичности нуклеотидов (Average Nucleotide Identity/ANI) рассчитанной с помощью программы pyani (https://github.com/widdowquinn/pyani). Поиск профагов проводили с помощью программы Prophage Hunter [23].

Определение желатиназной активности

Определение продукции желатиназы проводили классическим методом укола в столбик питательного желатина [24]. Использовали питательный желатин (HiMedia, Индия). Суточную чистую культуру энтерококков засевали уколом в столбик 12%-й желатиновой среды в пробирках. Инкубацию проводили при температуре 35–37°С в течение 24–48 ч, а в случае отрицательного результата – до 14 суток. Для оценки гидролиза пробирки охлаждали при +4°С в течение 30–60 мин.

Оценка гемолитической активности

Гемолитическую активность определяли путем посева чистой суточной культуры штаммов на чашки Петри с 5%-м кровяным агаром (на основе Brain Heart Infusion agar, HiMedia, Индия) с добавлением дефибринированной крови барана («ПанЭко», Россия). Посевы инкубировали при температуре 37°С в аэробных условиях в течение 24–48 ч. Интерпретацию результатов проводили визуально по наличию/отсутствию зон гемолиза.

Определение наличия биогенных аминов

Для фенотипического определения использовали метод, предложенный Bover-Cid и Holzapfel [25]. Использовали модифицированную среду декарбоксилирования MRS (HiMedia, Индия), дополненную 0,5% соответствующей аминокислоты-предшественника: L-тирозин (для тирамина), L-гистидин (для гистамина), L-орнитин (для путресцина), L-лизин (для кадаверина) – все производства HiMedia (Индия). В среду добавляли индикатор бромкрезоловый пурпурный до конечной концентрации 0,006% («ЛенРеактив», Россия). Исходный pH среды доводили до 5,3. Посевы инкубировали при 37°С в течение 4–7 суток. Интерпретацию результатов проводили визуально по изменению цвета среды.

Наличие генов, ответственных за синтез биогенных аминов, определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием специфических праймеров по протоколам [26, 27]. Состав смеси для ПЦР: 10× буфер, 2,5 мМ MgCl2, 0,2 мМ dNTPs, 0,5 мкМ каждого праймера, 1,25 ед. Taq-полимеразы. Программа амплификации: начальная денатурация 95°С – 5 мин; 30–35 циклов: 94°С – 45 с, 52°С – 45 с, 72°С – 1 мин; финальная элонгация 72°С – 10 мин. Продукты ПЦР анализировали методом электрофореза в 1,5%-м (w/v) агарозном геле с визуализацией бромистым этидием в ультрафиолетовом свете (табл. 1).

Результаты исследования и их обсуждение

1. Характеристика штамма SCPM-O-B-8925

Штамм SCPM-O-B-8925, выделенный из респираторной системы цыплят-бройлеров, был классифицирован как *E. mundtii* на основании комплексного подхода, включающего биохимические, масс-спектрометрические (MALDI-TOF) и молекулярно-генетические методы. Результат полногеномного секвенирования в виде сборки генома был депонирован в базу данных NCBI Genome, WGS project – JAIZFT01. Сборка генома штамма SCPM-O-B-8925 состояла из 56 контигов, общая длина генома составила 3 165 767 п.н., GC-состав – 38,30%. Таксономический статус штамма подтвержден результатами полногеномного секвенирования (WGS) с использованием независимых алгоритмов NCBI и ANI. Результаты показали, что геном SCPM-O-B-8925 имеет значение ANI 96,5% по отношению к хромосоме типового референсного штамма *E. mundtii* DSM 4838 (NCBI Reference Sequence: NZ_CP018061.1). Полученное значение выше порогового значения 95–96% для одного вида бактерий [28].

Анализ антибиотикограммы штамма SCPM-O-B-8925 (табл. 2) показал его чувствительность к 10 из 15 протестированных препаратов, включая ключевые гликопептиды и β-лактамы. Выявленная резистентность к макролидам (эритромицину) и аминогликозидам (амикацину, стрептомицину, тобрамицину) носит фенотипический характер, так как соот-

Таблица 2. **Антибиотикочувствительность штамма *E. mundtii* SCPM-O-B-8925**
Table 2. ***Antibiotic susceptibility of the strain E. mundtii SCPM-O-B-8925***

Антибиотик / *Antibiotic*	SCPM-O-B-8925 *E. mundtii*
Van	Чувствительный / *Sensitive*
Lz	Чувствительный / *Sensitive*
COT	Чувствительный / *Sensitive*
CD	Резистентный / *Resistant*
C	Чувствительный / *Sensitive*
P	Чувствительный / *Sensitive*
TEC	Чувствительный / *Sensitive*
LOM	Чувствительный / *Sensitive*
AH	Резистентный / *Resistant*
E	Резистентный / *Resistant*
S	Резистентный / *Resistant*
VI	Чувствительный / *Sensitive*
TE	Чувствительный / *Sensitive*
TOB	Резистентный / *Resistant*
AMP	Чувствительный / *Sensitive*
Гены антибиотикорезистентности / *Antibiotic resistance genes*	Не обнаружены / *Not found*

Ванкомицин (Van – 10 мкг/диск), хлорамфеникол (C – 30 мкг/диск), клиндамицин (CD – 10 мкг/диск), ко-тримоксазол (COT – 25 мкг/диск), линезолид (Lz – 10 мкг/диск), амикацин (AH – 30 мкг/диск), тейкопланин (TEC – 30 мкг/диск), эритромицин (E – 5 мкг/диск), ломефлоксацин (LOM – 10 мкг/диск), пенициллин G (P – 10 мкг/диск), вирджиниамицин (VI – 15 мкг/диск), стрептомицин (S – 10 мкг/диск), тетрациклин (TE – 30 мкг/диск), тобрамицин (TOB – 10 мкг/диск), ампициллин (AMP – 10 мкг/диск).
Vancomycin (Van – 10 μg/disc), chloramphenicol (C – 30 μg/disc), clindamycin (CD – 10 μg/disc), co-trimoxazole (SOT – 25 μg/disc), linezolid (Lz – 10 μg/disc), amikacin (AN – 30 μg/disc), teicoplanin (TES – 30 μg/disc), erythromycin (E – 5 μg/disc), lomefloxacin (LOM – 10 μg/disc), penicillin G (P – 10 μg/disc), virginiamycin (VI – 15 μg/disc), streptomycin (S – 10 μg/disc), tetracycline (TE – 30 μg/disc), tobramycin (TOV – 10 μg/disc), ampicillin (AMP – 10 μg/disc).

ветствующие гены резистентности в геноме обнаружены не были. Это свидетельствует об отсутствии приобретенных детерминант антибиотикоустойчивости и высоком профиле биологической безопасности штамма.

Несмотря на наличие фенотипической устойчивости к эритромицину и клиндамицину, в геноме штамма (на основе WGS-данных) не обнаружены известные детерминанты резистентности (гены семейства *erm*, *tet*, *van* и др.). Отсутствие мобильных генов резистентности к антибиотикам «резерва» (ванкомицину и линезолиду) при полной чувствительности к пенициллинам (пенициллин G, ампициллин) характеризует штамм SCPM-O-B-8925 как генетически стабильный и потенциально безопасный для дальнейшего использования.

Особого внимания заслуживает расхождение между фенотипической резистентностью штамма к макролидам (эритромицину) и аминогликозидам и результатами геномного профилирования. Проведенный биоинформатический анализ не выявил в геноме *E. mundtii* SCPM-O-B-8925 известных детерминант активного выведения антибиотиков, в частности генов эффлюксных насосов (таких как системы семейств ABC, MFS или RND, ассоциированных с лекарственной устойчивостью) (рис. 1). Отсутствие генов эффлюксных систем при сохранении устойчивости к ряду препаратов может свидетельствовать либо об ограниченной проницаемости клеточной стенки данного штамма, либо о наличии новых, еще не описанных механизмов адаптации. С точки зрения биобезопасности, отсутствие мобильных генетических элементов (плазмид и транспозонов) с генами эффлюксных насосов и антибиотикорезистентности существенно снижает риск передачи факторов устойчивости к патогенным микроорганизмам, что характеризует штамм как генетически стабильный и безопасный (табл. 2).

При биоинформатическом анализе генома в базе данных CARD были выявлены последовательности с низким уровнем гомологии (32–35%) к гену *vanY* (кластер vanB) (рис. 1). Учитывая низкий процент идентичности и подтвержденную фенотипическую чувствительность штамма к ванкомицину и тейкопланину, данные последовательности были классифицированы как нативные D,D-карбоксипептидазы, не связанные с формированием антибиотикорезистентности.

Биобезопасность и метаболический профиль штамма

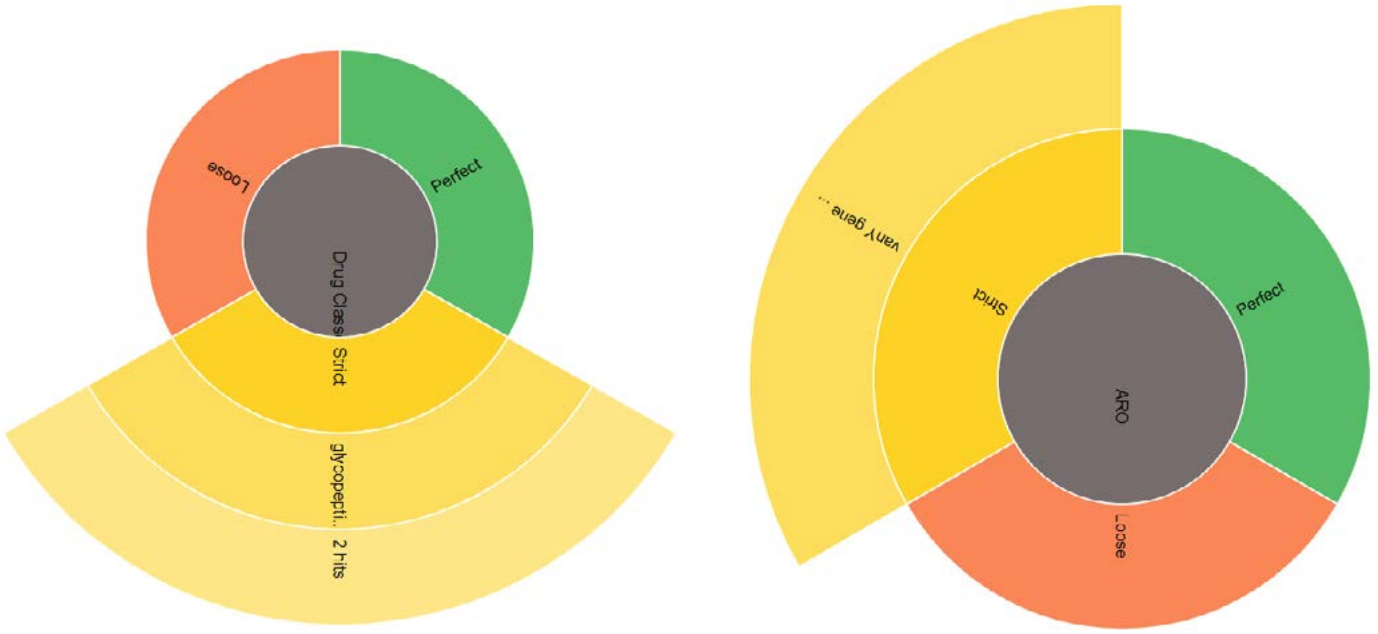
Генетический скрининг (*in silico*) не выявил в геноме *E. mundtii* SCPM-O-B-8925 известных детерминант вирулентности энтерококков (таких как гены агрегационной субстанции *asa1*, желатиназы *gelE*, цитолизина *cyl*, поверхностного белка *esp* и др.). Это подтверждает низкий патогенный потенциал штамма и его безопасность для использования в биотехнологии. В исследуемом геноме не обнаружены последовательности профагов. Отсутствие интегрированных умеренных фагов свидетельствует о высокой генетической стабильности штамма и минимизирует риск горизонтального переноса нежелательных генов. Штамм характеризуется отсутствием способности к синтезу основных токсичных биогенных аминов (фенилентиламина, гистамина, кадаверина, путресцина и триптамина). Отсутствие соответствующих декарбоксилаз подтверждает метаболическую безопасность штамма. Эти же выводы подтвердились при фенотипическом определении способности к разжижению желатина (отсутствие желатиназы) и гемолизу на агаре с добавлением бараньей крови (отсутствие гемолизинов).

Совокупность данных по антибиотикочувствительности (чувствительность к ванкомицину и линезолиду), отсутствию факторов вирулентности, мобильных генетических элементов (профагов) и неспособности к продукции биогенных аминов позволяет классифицировать штамм *E. mundtii* SCPM-O-B-8925 как безопасный (GRAS-статус).

2. Генетическая характеристика мундтицина P436

В предварительных исследованиях было установлено, что штамм *E. mundtii* SCPM-O-B-8925 проявляет выраженную антимикробную активность в отношении тест-штамма *L. monocytogenes* ATCC 19111, а ПЦР-анализом подтверждено наличие генов мундтицина KS. После проведения полногеномного секвенирования это подтвердилось с использованием баз данных программ BAGEL4 и NCBI. На рис. 2 представлен локус мундтицина P436.

Анализ генетического окружения локуса мундтицина P436 (на рис. 2 обозначается как AOI_01, Mundticin KS cluster) представляет собой высокоорганизованный биосинтетический кластер, встроенный в активный метаболический и регуляторный контекст генома *E. mundtii*. Ядро биосинтетического кластера включает структурный ген (на



Описание / *Description*	Критерий сравнения / *Comparison criterion*	Индекс подобия, % / *Similarity Index, %*	Идентичность, % / *Identity, %*
Ген *vanY* в кластере vanB / *Gene vanY in cluster vanB*	Строгий / *Strict*	114,8	35,57
Ген vanY в кластере vanB / *Gene vanY in cluster vanB*	Строгий / *Strict*	102,4	32,17

Рис. 1. **Наличие генов антибиотикорезистентности, в т.ч. генов семейств эффлюксных насосов, в штамме SCPM-O-B-8925.** Зеленая зона – идентичность с референс-последовательностью 90–100%, желтая зона идентичность с референс-последовательностью 30–80%, красная зона – совпадений не обнаружено. Табличная часть рисунка – процент идентичности (правый столбец) указывает процент совпадения с референс-последовательностью. Индекс подобия – схожесть с консервативными частями референс-последовательностей.
Fig. 1. ***Presence of antibiotic resistance genes, including efflux pump family genes, in the strain SCPM-O-B-8925.***
The green zone indicates 90–100% identity with the reference sequence, the yellow zone indicates 30–80% identity with the reference sequence, and the red zone indicates no matches found. In the tabular part of the figure, the percentage of identity (right column) specifies the match percentage with the reference sequence. The similarity index represents similarity to conserved regions of the reference sequences.

рис. 2 *Mundticin_ATO6*), кодирующий препетид бактериоцина класса IIa. Наличие мотивов PF01721 (Pediocin-like) и PF10439 подтверждает его принадлежность к педиоциноподобным бактериоцинам с консервативным мотивом YGNGV. Ген иммунитета (*EntA-Immun*) содержит домен PF08951, обеспечивая специфическую защиту штамма-продуцента от действия собственного мундтицина. Процессинг и транспорт (*LanT*) аннотирован как лактококцин-G-процессирующий АТФ-связывающий белок (LagD) с доменами PF00005 (ABC-транспортер) и PF03412 (пептидаза семейства C39), что указывает на двойную функцию: отщепление лидерного пептида по двойному глицину (GG-motif) и одновременный экспорт зрелой молекулы из клетки.

Слева от кластера локализована фосфотрансферазная система (PTS): orf00001 и orf00003 – системы транспорта сорбитола/глюцитола; orf00005 – гликозил-гидролаза семейства 109. Локализация генов бактериоцина рядом с генами утилизации углеводов указывает на регуляторную связь: синтез мундтицина может активироваться в условиях конкуренции за специфические источники углерода в среде обитания.

Генетическая архитектура локуса мундтицина P436 штамма SCPM-O-B-8925 характеризуется наличием полного оперона мундтицина KS (*munA-munI-lanT*), окруженного генами PTS-систем утилизации сорбитола и мобильными генетическими элементами (инвертаза типа Tn552). Сочетание транспортных белков с доменами пептидаз семейства C39 и систем рестрикции I типа указывает на высокую автономность и функциональную зрелость данного кластера.

Нами обнаружены некоторые различия в структуре локуса мундтицина P436 от описанных классических мундтицинов. Классический локус Mundticin KS (штамм *E. mundtii* NFRI 7393) характеризуется компактной организацией из трех генов: структурного (*munA*), транспортного (*munB*) и гена иммунитета (*munC*) [7]. В отличие от классической модели, локус мундтицина P436 демонстрирует признаки горизонтального переноса и гибридной функциональности: вместо специализированного *munB* в нашем кластере присутствует *LanT* (семейство PF00005/PF03412), характерный для лактококцинов [29]. Ген защиты идентифицирован как *EntA-Immun* (PF08951), типичный для энтероцина CRL35 [30]. Наличие ДНК-инвертазы bin3 (orf00008) и систем рестрикции-модификации (orf00033) свидетельствует о локализации локуса на мобильном генетическом элементе.

Если Mundticin KS часто регулируется кворум-сенсингом, то наш локус функционально сопряжен с PTS-системой глюцитола/сорбитола (*srlE/srlA*). Наличие доменов EIIB и EIIC (orf00001, orf00003), гомологичных белкам *Clostridium beijerinckii*, предполагает, что экспрессия мундтицина P436 находится под жестким контролем углеродной катаболитной

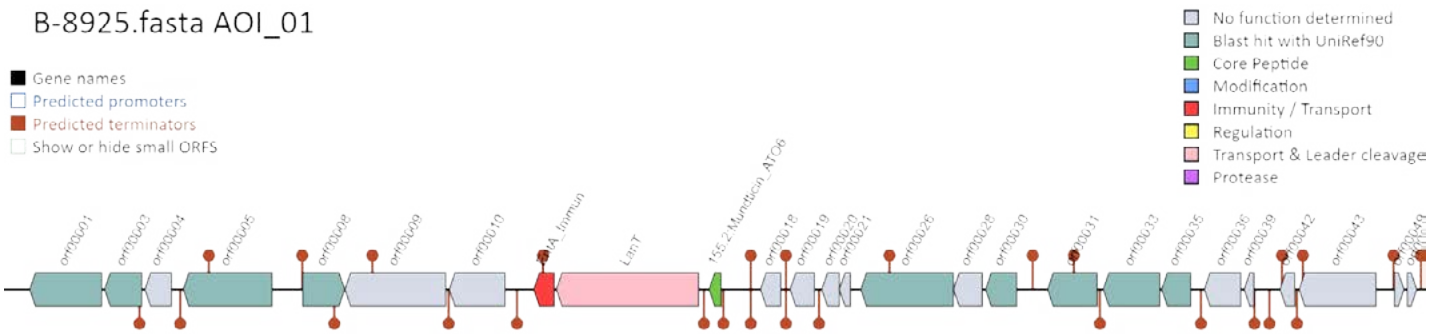


Рис. 2. **Генетическая организация локуса AOI_01 (кластер мундтицина P436) штамма *E. mundtii* SCPM-O-B-8925. Визуализация выполнена с помощью программы BAGEL4.**
Figure 2. ***Genetic organization of the AOI_01 locus (R436 mundticin cluster) in strain E. mundtii SCPM-O-B-8925. Visualization performed using the BAGEL4 program.***

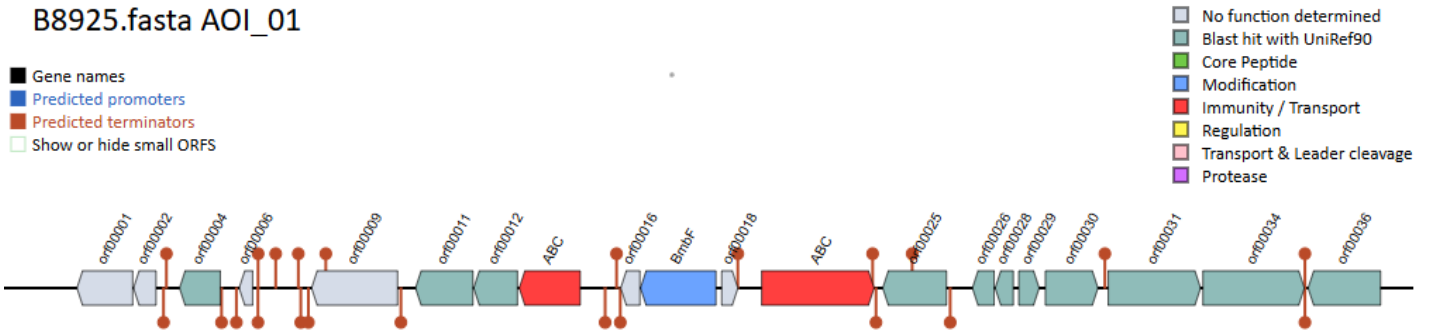


Рис. 3. **Анализ генетического локуса AOI_02. Визуализация выполнена с помощью программы BAGEL4.**
Figure 3. ***Analysis of the genetic locus AOI_02. Visualization performed using the software BAGEL4.***

репрессии (CCR). В присутствии глюкозы синтез будет подавлен, в то время как сорбитол (глюцитол) выступает в роли специфического индуктора [31].

Зрелый мундтицин P436 представляет собой классический мундтицин, состоящий из 43 а.о. – KYYGNGVSCNKKGC SVDWGKAIGIIGNNSAANLATGGAAGWKS, содержащий консервативный мотив KYYGNGV и дисульфидный мостик (между C в позициях 8 и 15 зрелого пептида), отвечающие за антимикробную активность бактериоцина, и в этом отношении не отличается от известных мундтицинов.

Помимо локуса мундтицина P436, при анализе генома был обнаружен еще один интересный локус, содержащий мотивы, которые позволили отнести его к семейству RiPPs – рибосомально синтезируемых пептидов. На рис. 3 представлена структура этого локуса.

Идентификация генетического локуса AOI_02 в геноме *E. mundtii* B-8925 свидетельствует о наличии системы биосинтеза микофактоцина – редкого представителя рибосомально синтезируемых и посттрансляционно модифицированных пептидов (RiPPs). Центральным звеном этого кластера является структурный ген прекурсора длиной 105 п.н. (34 а.о. – MKIVESKISSNRSNLMGCCLFFREGETDLFYSRF), обнаруженный при детальном ручном анализе слева от матуразы BmbF, содержащий консервативный дицистеиновый мотив (CC). Согласно современным моделям биогенеза микофактоцина, именно этот мотив служит специфической мишенью для радикальной SAM-матуразы MftC (в нашем случае – гомолога BmbF), которая катализирует образование углерод-углеродной связи между боковыми цепями тирозина и цистеина [32].

Наличие в непосредственной близости генов, кодирующих ABC-транспортеры, подтверждает функциональную завершенность локуса. В системах синтеза бактериоцинов и родственных RiPPs данные белки выполняют двойную роль: обеспечивают экспорт зрелого продукта из клетки и формируют механизм самоиммунитета [33]. Тот факт, что полная генетическая система микофактоцина обнаружена у штамма *E. mundtii*, расширяет наши представления о распространении этого кофактора. Традиционно микофактоцин ассоциировался с метаболизмом микобактерий [34]. Обнаружение аналогичной системы у энтерококков может указывать на важную роль этого редокс-активного соединения в адаптации *E. mundtii* к специфическим нишам или его участии в межвидовой конкуренции.

Таким образом, в ходе проведенного исследования детально охарактеризован штамм *E. mundtii* SCPM-O-B-8925, выделенный из респираторного тракта сельскохозяйственной птицы. Комплексный подход, сочетающий классическую микробиологию, масс-спектрометрию и полногеномное секвенирование, позволил установить следующее.

1. Таксономический статус и геномные характеристики. Полифазная идентификация однозначно подтвердила принадлежность штамма к виду *E. mundtii*. Сборка генома (NCBI ID: JAIZFT) размером 3,17 Мб с покрытием 137,7× послужила надежной базой для биоинформатического анализа.

2. Биологическая безопасность. Штамм характеризуется высоким профилем безопасности (статус GRAS). Чувствительность к антибиотикам резерва подтверждена отсутствием соответствующих генов резистентности.

Установлено отсутствие генов патогенности, профагов и систем синтеза токсичных биогенных аминов.

3. Антимикробный потенциал. В геноме идентифицирован полнофункциональный оперон мундтицина KS (munA-munI-lanT), кодирующий высокоактивный пептид класса IIa, эффективный против грамположительных патогенов (в частности, *Listeria* spp.).

4. Метаболическая уникальность. Обнаружен редкий для энтерококков биосинтетический кластер микофактоцина (RiPPs-кофактора) с участием радикальной SAM-матуразы (BmbF) и специфического пре-пептида (34 а.о.).

Доказанная биологическая биобезопасность штамма *E. mundtii* SCPM-O-B-8925 с наличием активного локуса, кодирующего бактериоцин, позволяет рекомендовать его в качестве штамма-продуцента мундтицина P436 для использования в качестве биоконсерванта в пищевой промышленности. Кроме того, штамм является перспективным для использования в качестве постбиотика.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Funding

The work was supported by the Sectoral Scientific Program of the Rospotrebnadzor.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

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 this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература / References

1. Cotter PD, Ross RP, Hill C. Bacteriocins – a viable alternative to antibiotics? Nat Rev Microbiol. 2013 Feb;11(2):95-105. DOI: 10.1038/nrmicro2937
2. Klaenhammer TR. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiol Rev. 1993 Sep;12(1-3):39-85. DOI: 10.1111/j.1574-6976.1993.tb00012.x
3. Drider D, Fimland G, Héchard Y, McMullen LM, Prévost H. The continuing story of class IIa bacteriocins. Microbiol Mol Biol Rev. 2006 Jun;70(2):564-82. DOI: 10.1128/MMBR.00016-05
4. Feng G, Guron GK, Churey JJ, Worobo RW. Characterization of mundticin L, a class IIa anti-*Listeria* bacteriocin from *Enterococcus mundtii* CUGF08. Appl Environ Microbiol. 2009 Sep;75(17):5708-13. DOI: 10.1128/AEM.00752-09
5. Ferreira AE, Canal N, Morales D, Fuentefria DB, Corrêo G. Characterization of enterocins produced by *Enterococcus mundtii* isolated from humans feces. Braz Arch Biol Technol. 2007;50(2):249-258.
6. Minahk CJ, Farías ME, Sesma F, Morero RD. Effect of enterocin CRL35 on *Listeria monocytogenes* cell membrane. FEMS Microbiol Lett. 2000 Nov 1;192(1):79-83. DOI: 10.1111/j.1574-6968.2000.tb09362.x
7. Kawamoto S, Shima J, Sato R, Eguchi T, Ohmomo S, Shibato J, et al. Biochemical and genetic characterization of mundticin KS, an antilisterial peptide produced by *Enterococcus mundtii* NFRI 7393. Appl Environ Microbiol. 2002 Aug;68(8):3830-40. DOI: 10.1128/AEM.68.8.3830-3840.2002
8. Quadri LE, Yan LZ, Stiles ME, Vederas JC. Effect of amino acid substitutions on the activity of carnobacteriocin B2. J Biol Chem. 1997;272:3384-3388. DOI: 10.1074/jbc.272.6.3384.
9. Miller KW, Schamber R, Osmanagaoglu O, Ray B. Isolation and characterization of pediocin AcH chimeric protein mutants with altered bactericidal activity. Appl Environ Microbiol. 1998 Jun;64(6):1997-2005. DOI: 10.1128/AEM.64.6.1997-2005.1998
10. Abaimova A, Kartsev N, Svetoch E, Tazina O, Novikova T, Platonov M, et al. Mundticin KS: Characterization and production method. J Appl Environ Microbiol. 2021;9(1):9-21. DOI: 10.12691/jaem-9-1-3
11. EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Ricci A, Allende A, Bolton D, Chemaly M, Davies R, Girones R, et al. Scientific Opinion on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA. EFSA J. 2017 Mar 14;15(3):e04664. DOI: 10.2903/j.efsa.2017.4664
12. Ogier JC, Serror P. Safety assessment of dairy microorganisms: the *Enterococcus* genus. Int J Food Microbiol. 2008;126:291-301. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.017
13. Weiner LM, Webb AK, Limbago B, Dudeck MA, Patel J, Kallen AJ, et al. Antimicrobial-Resistant Pathogens Associated With Healthcare-Associated Infections: Summary of Data Reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011-2014. Infect Control Hosp Epidemiol. 2016 Nov;37(11):1288-1301. DOI: 10.1017/ice.2016.174
14. Megran DW. Enterococcal endocarditis. Clin Infect Dis. 1992;15(1):63-71. DOI: 10.1093/clinids/15.1.63
15. Светоч ЭА, Теймуразов МГ, Тазина ОИ, Абаимова АА, Лев АИ, Асташкин ЕИ, и др. Антибиотикорезистентность культур *Enterococcus* spp., выделенных от промышленной птицы в 2013–2016 гг. в хозяйствах Российской Федерации, и детекция у них генов резистентности к ванкомицину. Альманах клинической медицины. 2017;45(2):138-146. / Svetoch EA, Teymurazov MG, Tazina OI, Abaimova AA, Lev AI, Astashkin EI, et al. Antibacterial resistance of *Enterococcus* spp. isolated from commercial poultry of the Russian Federation farms in 2013–2016, and identification of vancomycin resistance genes. Almanac of Clinical

Medicine. 2017;45(2):138-146. DOI: 10.18786/2072-0505-2017-45-2-138-146. (In Russian).
16. Laulund S, Wind A, Derkx P, Zuliani V. Regulatory and safety requirements for food cultures. Microorganisms. 2017;5(2):28. DOI: 10.3390/microorganisms5020028
17. Fox A. Mass spectrometry for species or strain identification after culture or without culture: past, present, and future. J Clin Microbiol. 2006;44(8):2677-2680. DOI: 10.1128/JCM.00971-06
18. 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
19. Tatusova T, DiCuccio M, Badretdin A, Chetvernin V, Nawrocki EP, Zaslavsky L, et al. NCBI prokaryotic genome annotation pipeline. Nucleic Acids Res. 2016 Aug 19;44(14):6614-24. DOI: 10.1093/nar/gkw569
20. Alcock BP, Huynh W, Chalil R, Smith KW, Raphenya AR, Wlodarski MA, et al. CARD 2023: expanded curation, support for machine learning, and resistome prediction at the Comprehensive Antibiotic Resistance Database. Nucleic Acids Res. 2023 Jan 6;51(D1):D690-D699. DOI: 10.1093/nar/gkac920
21. Center for Genomic Epidemiology. VirulenceFinder 2.0. Available at: http://www.genomicepidemiology.org.
22. van Heel AJ, de Jong A, Montalbán-López M, Kok J, Kuipers OP. BAGEL3: Automated identification of genes encoding bacteriocins and (non-)bactericidal posttranslationally modified peptides. Nucleic Acids Res. 2013 Jul;41(Web Server issue):W448-53. DOI: 10.1093/nar/gkt391
23. Song W, Sun HX, Zhang C, Cheng L, Peng Y, Deng Z, et al. Prophage Hunter: an integrative hunting tool for active prophages. Nucleic Acids Res. 2019 Jul 2;47(W1):W74-W80. DOI: 10.1093/nar/gkz380
24. MacFaddin JF. Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000.
25. Bover-Cid S, Holzapfel WH. Improved screening procedure for biogenic amine production by lactic acid bacteria. Int J Food Microbiol. 1999 Dec 1;53(1):33-41. DOI: 10.1016/s0168-1605(99)00152-x
26. Marcobal A, de las Rivas B, Moreno-Arribas MV, Muñoz R. Multiplex PCR method for the simultaneous detection of histamine-, tyramine-, and putrescine-producing lactic acid bacteria in foods. J Food Prot. 2005 Apr;68(4):874-8. DOI: 10.4315/0362-028x-68.4.874
27. Coton E, Coton M. Multiplex PCR for colony direct detection of Gram-positive histamine- and tyramine-producing bacteria. J Microbiol Methods. 2005 Dec;63(3):296-304. DOI: 10.1016/j.mimet.2005.04.001
28. Jain C, Rodriguez-R LM, Phillippy AM, Konstantinidis KT, Aluru S. High throughput ANI analysis of 90K prokaryotic genomes reveals clear species boundaries. Nat Commun. 2018 Nov 30;9(1):5114. DOI: 10.1038/s41467-018-07641-9
29. Heng NCK, Wescombe PA, Burton JP, Jack RW, Tagg, JR. The diversity of bacteriocins in Gram-positive bacteria. In: Riley MA, Chavan MA, eds. Bacteriocins: Ecology and Evolution. Springer; 2007;45-92.
30. Tymoszewska A, Diep DB, Wirtek P, Aleksandrzak-Piekarczyk T. The Non-Lantibiotic Bacteriocin Garvicin Q Targets Man-PTS in a Broad Spectrum of Sensitive Bacterial Genera. Sci Rep. 2017 Aug 21;7(1):8359. DOI: 10.1038/s41598-017-09102-7
31. Zúñiga M, Comas I, Linaje R, Monedero V, Yebra MJ, Esteban CD, et al. Horizontal gene transfer in the molecular evolution of mannose PTS transporters. Mol Biol Evol. 2005 Aug;22(8):1673-85. DOI: 10.1093/molbev/msi163
32. Haft DH, Basu MK. Biological systems discovery *in silico*: radical S-adenosylmethionine protein families and their target peptides for posttranslational modification. J Bacteriol. 2011 Jun;193(11):2745-55. DOI: 10.1128/JB.00040-11
33. Ayikpoe RS, Latham JA. MftD Catalyzes the Formation of a Biologically Active Redox Center in the Biosynthesis of the Ribosomally Synthesized and Post-translationally Modified Redox Cofactor Mycofactocin. J Am Chem Soc. 2019 Aug 28;141(34):13582-13591. DOI: 10.1021/jacs.9b06102
34. Arnison PG, Bibb MJ, Bierbaum G, Bowers AA, Bugni TS, Bulaj G, et al. Ribosomally synthesized and post-translationally modified peptide natural products: overview and recommendations for a universal nomenclature. Nat Prod Rep. 2013 Jan;30(1):108-60. DOI: 10.1039/c2np20085f

Информация о соавторах:

Абаимова Алёна Алексеевна, младший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-2280-5793

Коваленко Илья Михайлович, младший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Тазина Ольга Ивановна, лаборант-исследователь ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Кисличкина Ангелина Александровна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела коллекционных культур ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-8389-2494

Information about co-authors:

Alyona A. Abaimova, Junior Researcher of the Laboratory of Antimicrobial Drugs, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-2280-5793

Ilya M. Kovalenko, Junior Researcher of the Laboratory of Antimicrobial Drugs, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Olga I. Tazina, Research Laboratory Technician of the Laboratory of Antimicrobial Drugs, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Angelina A. Kislichkina, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher of the Culture Collections Dep., State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-8389-2494

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-25-29

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 25–29
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 25–29

Конструирование продуцента рекомбинантного пестицина

М.Е.Платонов, П.Х.Копылов, С.В.Дентовская, А.П.Анисимов

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Московская область, Российская Федерация

В статье представлены данные по разработке контрольного образца для определения специфической активности бактериоцина *Yersinia pestis* – пестицина – в отношении патогенных бактерий, обладающих иерсиниабактинзависимой системой поглощения железа. Приведены результаты, подтверждающие сохранение бактериолитической активности и субстратной специфичности рекомбинантного пестицина Pst-His_6. Контрольный образец рекомбинантного пестицина Pst-His_6 используется при проведении сравнительной оценки специфической антибактериальной активности разрабатываемых генноинженерных препаратов – кандидатов в лекарственные средства.

Ключевые слова: бактериоцины, пестицин, контрольный образец, специфическая активность

Для цитирования: Платонов М.Е., Копылов П.Х., Дентовская С.В., Анисимов А.П. Конструирование продуцента рекомбинантного пестицина. Бактериология. 2026; 11(2): 25–29. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-25-29

Designing a recombinant pesticide producer

M.E.Platonov, P.Kh.Kopylov, S.V.Dentovskaya, A.P.Anisimov

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Moscow region, Russian Federation

This article presents data on the development of a control sample for determining the specific activity of the *Yersinia pestis* bacteriocin, pesticin, against pathogenic bacteria possessing a yersiniabactin-dependent iron uptake system. Results confirming the retention of bacteriolytic activity and substrate specificity of the recombinant pesticin Pst-His_6 are presented. The control sample of the recombinant pesticin Pst-His_6 is used in comparative evaluations of the specific antibacterial activity of genetically engineered drug candidates under development.

Key words: bacteriocins, pesticin, control sample, specific activity

For citation: Platonov M.E., Kopylov P.Kh., Dentovskaya S.V., Anisimov A.P. Designing a recombinant pesticide producer. Bacteriology. 2026; 11(2): 25–29. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-25-29

Глобальное распространение бактериальных патогенов с множественной лекарственной устойчивостью вызвало закат «эры антибиотиков». В качестве альтернативы антибиотикам на передний план выступают препараты на основе бактериоцинов, бактериофагов и их литических ферментов (фаговых лизинов). Бактериоцины представляют собой синтезируемые на рибосомах белки или пептиды, вырабатываемые различными штаммами бактерий для подавления жизнедеятельности других штаммов того же вида или родственных видов с целью получения селективного преимущества в борьбе за ограниченные ресурсы определенной экологической ниши. Многие из бактериоцинов обладают антибактериальной активностью по отношению к таким патогенам, как *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Shigella* sp., *Klebsiella pneumoniae* и др. [1].

Возбудитель чумы – грамотрицательная бактерия *Yersinia pestis* – продуцирует бактериоцин пестицин, который имеет уникальную структуру среди бактериоцинов и проявляет мурамидазную активность [2]. Пестицин связывается с белком внешней мембраны FyuA – рецептором сидерофора иерсиниабактина – и проникает в периплазму бактериальной клетки посредством системы белков TonB, ExbB и ExbD, которые закреплены на цитоплазматической мембране [3]. Продукция пестицина характерна для всех штаммов чумного микроба (за исключением представителей биовара *Caucasica*), а ген рецептора иерсиниабактина *fyuA*, находящийся в составе острова высокой патогенности, присущ не только *Y. pestis*, но и *Y. pseudotuberculosis*, *Y. enterocolitica*, а также встречается в энтероагрегативных, энтеропатогенных, энтероинвазивных и энтеротоксигенных штаммах

Для корреспонденции:

Платонов Михаил Евгеньевич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, р.п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24

Статья поступила 04.03.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Mikhail E. Platonov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher Laboratory of Genetic Engineering and Diagnosis of Causative Agents of Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Address: 24 “Quarter A” Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow region, 142279, Russian Federation

The article was received 04.03.2026, accepted for publication 30.06.2026

E. coli, изолятах *E. coli*, выделенных из культур крови, штаммах *Klebsiella* spp. и *Citrobacter* spp. [4–6].

Оперон биосинтеза пестицина состоит из двух генов – гена пестицина *pst* и гена белка иммунитета к пестицину *pim*, которые вместе с геном активатора плазминогена *pla* находятся на плазмиде pPCP1 (pPst) [7].

Пестицин представляет собой белок с молекулярной массой 40 кДа, состоящий из 357 аминокислотных остатков. Третичная структура пестицина образована тремя доменами: N-концевым транслокационным, промежуточным рецепторсвязывающим и С-концевым литическим доменом, структурно аналогичным лизозиму фага Т4 [8]. В случае заменены домена активности лизозимом Т4 образуется ферментативно активный химерный белок, который не ингибируется белком иммунитета к пестицину Pim [9]. Сохранение бактерицидной активности у гибридных производных пестицина в сочетании со специфической транслокационной способностью делает привлекательным конструирование химерных белков – токсинов с измененной субстратной специфичностью, активных в отношении определенных видов или даже внутривидовых групп бактериальных патогенов. Однако производство таких химер требует активного контроля, непременной составляющей которого является использование стандартных образцов биологической активности (международного, государственного, отраслевого, учрежденческого и даже лабораторного уровня), обеспечивающих подлинность и легитимность результатов научных исследований [10–12].

Целью настоящего исследования была разработка и оценка характеристик контрольного образца рекомбинантного пестицина.

Материалы и методы

Штаммы микроорганизмов и условия культивирования

Штаммы бактерий и плазмиды, использованные в работе, представлены в таблице.

Штаммы *Y. pestis* выращивали на среде BHI. Штаммы *E. coli* выращивали на плотной или в жидкой среде LB, добавляя при необходимости ампициллин до концентрации 100 мкг/мл.

Конструирование штамма-продуцента рекомбинантного пестицина

Фрагмент ДНК, содержащий ген пестицина, амплифицировали в полимеразной цепной реакции (ПЦР) с использованием пары праймеров Pst-NdeI 5'-CAATCATATGTCAGATACAA TGGTAGTG-3' и Pst-XhoI 5'-CTCCTCGAGTTTTAACAATCCACT ATC-3' (сайты эндонуклеаз рестрикции NdeI и XhoI подчеркнуты). В качестве матрицы в ПЦР использовали 20 нг тотальной ДНК штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ. Для амплификации использовали высокоточную полимеразу Phusion Hot Start II High-Fidelity DNA Polymerase (Thermo Scientific, Литва) в соответствии с рекомендациями производителя. Ампликон выделяли из 0,7%-го агарозного геля с помощью набора Illustra™ GFX™ PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare, Великобритания), обрабатывали эндонуклеазами рестрикции NdeI и XhoI и лигировали с обработанным соответствующими эндонуклеазами вектором pET-32b(+). Полученным лигатом трансформировали компетентные клетки *E. coli* DH5α. Отбор трансформантов проводили по фенотипу ApR на плотной питательной среде LB с ампициллином. Скрининг рекомбинантных плазмид, содержащих искомый фрагмент, осуществляли при помощи ПЦР с использованием тех же праймеров и Taq-полимеразы («Евроген», Россия). Продукты ПЦР анализировали электрофорезом в 0,7%-м агарозном геле. Из клонов, давших положительный сигнал в ПЦР, выделяли плазмидную ДНК и анализировали электрофорезом в 0,7%-м агарозном геле. Правильность сборки плазмиды подтверждали рестрикционным анализом и секвенированием. Выделенной плазмидной ДНК трансформировали компетентные клетки *E. coli* BL21(DE3).

Продукция рекомбинантного пестицина

Ночной бульонной культурой штамма *E. coli* BL21(DE3) (pET32-pst) засевали качалочные колбы с 250 мл среды LB в соотношении 1/100 и культивировали до достижения культурой оптической плотности при λ = 590 нм ОП590 6,3 ед. Синтез белка индуцировали путем добавления изопропил-β-

Таблица. **Штаммы и плазмиды, использованные в работе**
Table. ***Strains and plasmids used in the work***

Штамм/плазмида / *Strain/plasmid*	Характеристика / *Characterization*	Источник получения и/или ссылка на литературу / *Source of information and/or reference to literature*
Y. pestis EV НИИЭГ	Pgm$^-$, pFra$^+$, pCad$^+$, pPst$^+$	ГКПМ-Оболенск*
Y. pestis 1146(pCad$^-$ pPst$^-$)	Pgm$^+$, pFra$^+$, pCad$^-$, pPst$^-$	ГКПМ-Оболенск
E. coli DH5α	F$^-$ *gyrA96* (Nal^r) *recA1 relA1 endA1 thi-1 hsdR17*(rk–mk$^+$) *glnV44 deoR* Δ(*lacZYA-argF*) *U169* [φ80dΔ(*lacZ*)*M15*]	ГКПМ-Оболенск
E. coli BL21(DE3)	F$^-$ *ompT hsdSB* (rB$^-$mB$^-$) *gal dcm* (DE3)	ГКПМ-Оболенск
E. coli DH5α(pET32-pst)	F$^-$ *gyrA96* (Nal^r) *recA1 relA1 endA1 thi-1 hsdR17*(rk$^-$mk$^+$) *glnV44 deoR* Δ(*lacZYA-argF*) *U169* [φ80dΔ(*lacZ*)*M15*] (pET32-pst)	Данная работа / *This work*
E. coli BL21(DE3)(pET32-pst)	F$^-$ *ompT hsdSB* (rB$^-$mB$^-$) *gal dcm* (DE3) (pET32-pst)	Данная работа / *This work*
pET-32b(+)	*bla* pBR322 ori PT7	ГКПМ-Оболенск
pET32-pst	*bla* pBR322 ori PT7 *pst*	Данная работа / *This work*

* State Collection of Pathogenic Microorganisms and Cell Cultures.

D-1-тиогалактопиранозида ИТПГ до конечной концентрации 0,5 мМ, после чего продолжали культивирование еще 4 ч.

Очистка белка с помощью металл-хелатной аффинной хроматографии

Предварительно определили, что пестицин накапливается в растворимой фракции клеток при культивировании при температуре 37°С. Влажный осадок клеток *E. coli* BL21(DE3) (pET32-pst) (5,6 г) суспензировали в 150 мл буферного раствора, содержащего 5 мМ имидазола, 500 мМ NaCl и 20 мМ трис-HCl, pH 7,9 (буфер А), и лизировали на ультразвуковом дезинтеграторе Bandelin Sonopulse при 4°С с мощностью 50% в импульсном режиме продолжительностью по 15 с с равновеликими паузами до 70 кДж показателя суммарной энергии. Лизат центрифугировали при 15 000 g и температуре 20°С в течение 30 мин. Надосадочную фракцию пропускали через колонку HisTrap HP, 1 × 5 ml (Cytiva), предварительно уравновешенную буфером А, и промывали 6 объемами этого же буфера. Белки элюировали 60 мМ и 600 мМ раствора имидазола в буфере А. Состав собранных по 6 мл фракций анализировали методом денатурирующего электрофореза в полиакриламидном геле с использованием додецилсульфата натрия ДСН-ПААГ электрофореза в 12%-м полиакриламидном геле с последующей окраской гелей Кумасси G-250 [13]. Фракции с наибольшим количеством пестицина объединяли и подвергали гель-фильтрации на колонке XK 26/20 (Cytiva), упакованной носителем TOYOPEARL HW-40 (Tosoh Bioscience) и уравновешенной фосфатно-солевым буфером (pH 7,4).

Определение активности белка

Литическую активность рекомбинантного пестицина определяли методом двуслойного агара. На чашки Петри с BHI-агаром наслаивали 4,5 мл полужидкого BHI-агара с добавлением 0,1 мл суспензии суточной культуры штамма 1146 *Y. pestis* в физиологическом растворе с концентрацией 10^9 КОЕ/мл. После застывания верхнего агара на него наносили разведения раствора рекомбинантного пестицина. Чашки инкубировали в термостате в течение ночи при температуре 28°С. Учет результатов проводили путем измерения зоны просветления (зоны лизиса культуры) в полужидком агаре.

Результаты исследования и их обсуждение

Слитый белок Pst-His_6 состоит из 365 аминокислотных остатков и включает в себя все 357 аминокислотных остатков, кодируемых геном pst; остатки лейцина и глутаминовой кислоты, кодируемые последовательностью сайта рестрикции XhoI, и 6 остатков гистидина, кодируемых вектором pET-32b(+) и служащих для выделения белка методом металл-хелатной хроматографии. Для получения His_6-tag слитого белка амплифицированный в ПЦР фрагмент ДНК *Y. pestis* EV НИИЭГ размером 1089 п.о. клонировали в экспрессирующем векторе pET-32b(+) по сайтам рестрикции NdeI и XhoI. Созданной плазмидой pET32-pst (рис. 1) трансформировали штамм *E. coli* BL21(DE3).

Анализ образцов культур *E. coli* BL21(DE3)(pET32-pst) показал наличие дополнительного белка при индукции ИПТГ по сравнению с неиндуцированным образцом. Рекомбинантный пестицин присутствовал в клеточном лизате в виде мажорной полосы, соответствующей по молекулярной массе расчетному значению 41,1 кДа для белка Pst-His_6 (рис. 2).

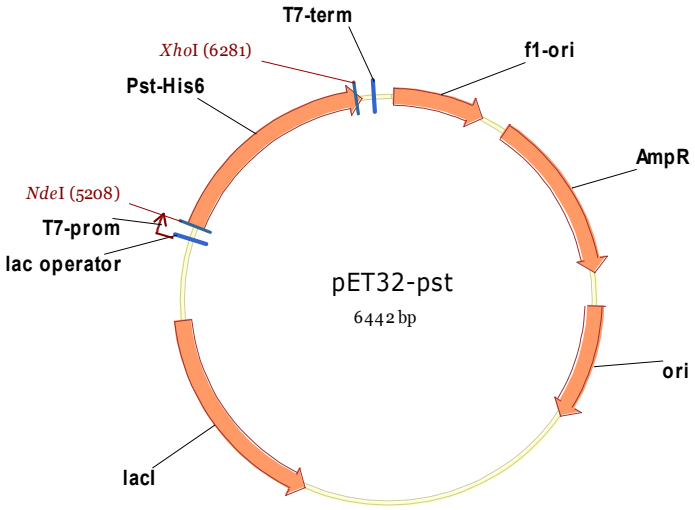


Рис. 1. **Карта плазмиды pET32-pst.**
Fig. 1. ***Map of the pET32-pst plasmid.***

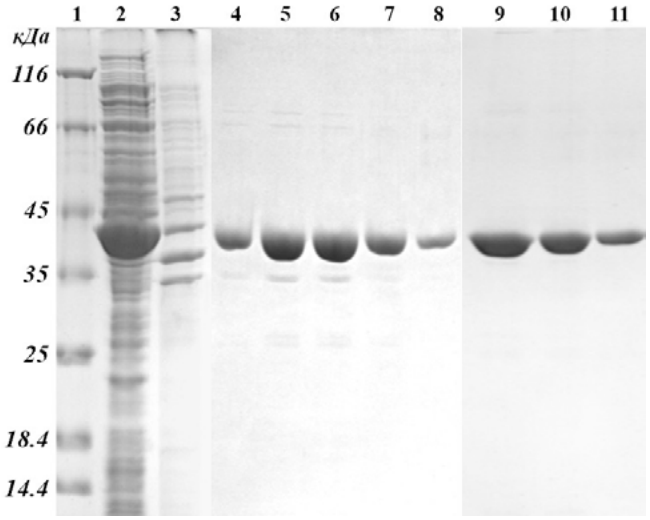


Рис. 2. **Аффинная хроматография и гель-фильтрации рекомбинантного пестицина Pst-His_6. Линии: 1 – маркеры молекулярных масс; 2 – растворимая фракция клеток; 3 – фракция клеточного осадка; 4–8 – белки, элюированные 600 мМ раствора имидазола; 9–11 – фракции пестицина после гель-фильтрации.**
Fig. 2. ***Affinochromatography and gel-filtration of recombinant pesticide Pst-His_6. Lines: 1 – molecular weight markers; 2 – soluble cell fraction; 3 – cell pelle t fraction; 4–8 – proteins eluted with 600 mM imidazole solution; 9–11 – pesticide fractions after gel-filtration.***

Выделенный рекомбинантный белок Pst-His_6 (рис. 3) обладал чистотой >90%, как свидетельствуют данные ДСН-ПААГ.

Рекомбинантный пестицин Pst-His_6 сохранил бактериолитическую активность по отношению к тест-штамму *Y. pestis* 1146(pCad$^-$ pPst$^-$), лишенному плазмиды pPst (рис. 3).

Заключение

Таким образом, в результате нашей работы был сконструирован продуцент рекомбинантного пестицина Pst-His_6, кото-

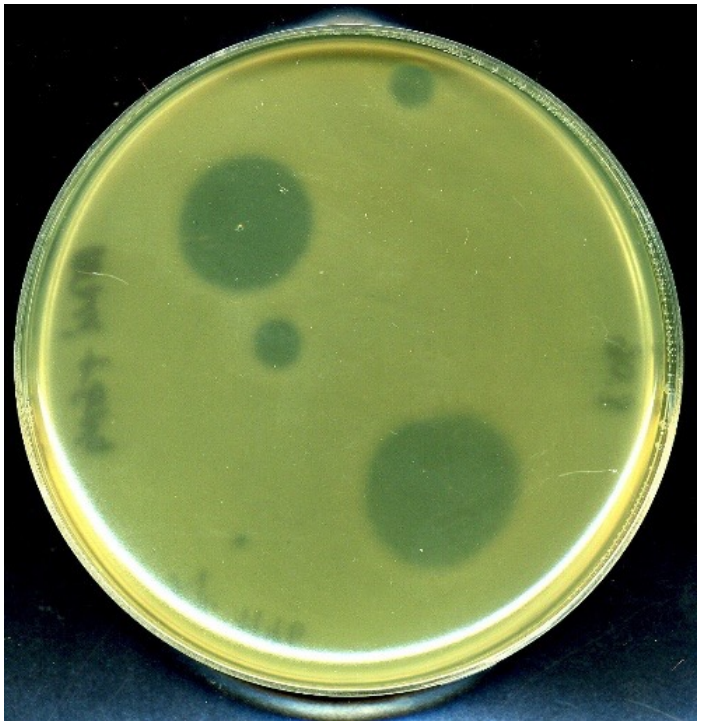


Рис. 3. **Проверка бактериолитической активности рекомбинантного пестицина Pst-His$_6$ на тест-штамме *Y. pestis* 1146(pCad$^-$pPst$^-$).**
*Fig. 3. **Testing the bacillolytic activity of the recombinant pesticide Pst-His$_6$ on the test strain Y. pestis 1146(pCad$^-$pPst$^-$).***

рый обладает рядом преимуществ по сравнению с нативным пестицином. Белок легко выделяется из биомассы штамма-продуцента методом металл-хелатной хроматографии и сохраняет литическую активность по отношению к тест-штамму *Y. pestis* 1146(pCad$^-$pPst$^-$). Сохранение бактериолитической активности и субстратной специфичности рекомбинантного пестицина Pst-His$_6$ свидетельствует о возможности его использования в качестве контрольного образца при конструировании антибактериальных препаратов на основе рекомбинантных производный пестицина с измененным спектром активности.

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding

No funding was received for conducting this study and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

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 this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Blinkova LP, Al'tshuler ML, Dorofeeva ES, Gorobets OB. Molecular basis of bacteriocins production and activity. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 2007 Mar-Apr;(2):97-104.
2. Vollmer W, Pilsl H, Hantke K, Höltje JV, Braun V. Pesticin displays muramidase activity. J Bacteriol. 1997 Mar;179(5):1580-3. DOI: 10.1128/jb.179.5.1580-1583.1997
3. Cascales E, Buchanan SK, Duché D, Kleanthous C, Lloubès R, Postle K, et al. Colicin biology. Microbiol Mol Biol Rev. 2007 Mar;71(1):158-229. DOI: 10.1128/MMBR.00036-06
4. Reeves P. The bacteriocins. Bacteriol Rev. 1965 Mar;29(1):24-45. DOI: 10.1128/br.29.1.24-45.1965
5. Schubert S, Rakin A, Karch H, Carniel E, Heesemann J. Prevalence of the "high-pathogenicity island" of *Yersinia* species among *Escherichia coli* strains that are pathogenic to humans. Infect Immun. 1998 Feb;66(2):480-5. DOI: 10.1128/IAI.66.2.480-485.1998
6. Karch H, Schubert S, Zhang D, Zhang W, Schmidt H, Olschläger T, et al. A genomic island, termed high-pathogenicity island, is present in certain non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* clonal lineages. Infect Immun. 1999 Nov;67(11):5994-6001. DOI: 10.1128/IAI.67.11.5994-6001.1999
7. Rakin A, Boolgakowa E, Heesemann J. Structural and functional organization of the *Yersinia pestis* bacteriocin pesticin gene cluster. Microbiology (Reading). 1996 Dec;142 (Pt 12):3415-24. DOI: 10.1099/13500872-142-12-3415
8. Patzer SI, Albrecht R, Braun V, Zeth K. Structural and mechanistic studies of pesticin, a bacterial homolog of phage lysozymes. J Biol Chem. 2012 Jul 6;287(28):23381-96. DOI: 10.1074/jbc.M112.362913
9. Lukacik P, Barnard TJ, Keller PW, Chaturvedi KS, Seddiki N, Fairman JW, et al. Structural engineering of a phage lysin that targets gram-negative pathogens. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Jun 19;109(25):9857-62. DOI: 10.1073/pnas.1203472109
10. Носкова ВД. Проблемы и перспективы развития отечественного рынка стандартных образцов. Молодые ученые России: сборник статей XIV Всероссийской научно-практической конференции, Пенза, 23 августа 2022 г. Пенза: Наука и Просвещение (ИП Гуляев Г.Ю.), 2022;94-98.

11. Абрамова ЕГ, Лобовикова ОА, Шульгина ИВ, Комиссаров АВ, Савицкая ЛВ, Генералов СВ, и др. Разработка стандартного образца предприятия (СОП) специфической активности иммуноглобулина антирабического из сыворотки крови лошади. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017;4:160-164.
12. Волкова РА, Фадейкина ОВ, Климов ВИ, Саканян ЕИ, Олефир ЮВ, Меркулов ВА, и др. Актуальные вопросы стандартных образцов в сфере обращения биологических лекарственных средств. Биопрепараты. Профилактика, диагностика, лечение. 2016;16(4(60)):229-236.
13. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970 Aug 15;227(5259):680-5. DOI: 10.1038/227680a0

References

1. Blinkova LP, Al'tshuler ML, Dorofeeva ES, Gorobets OB. Molecular basis of bacteriocins production and activity. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol. 2007 Mar-Apr;(2):97-104.
2. Vollmer W, Pilsl H, Hantke K, Höltje JV, Braun V. Pesticin displays muramidase activity. J Bacteriol. 1997 Mar;179(5):1580-3. DOI: 10.1128/jb.179.5.1580-1583.1997
3. Cascales E, Buchanan SK, Duché D, Kleanthous C, Lloubès R, Postle K, et al. Colicin biology. Microbiol Mol Biol Rev. 2007 Mar;71(1):158-229. DOI: 10.1128/MMBR.00036-06
4. Reeves P. The bacteriocins. Bacteriol Rev. 1965 Mar;29(1):24-45. DOI: 10.1128/br.29.1.24-45.1965
5. Schubert S, Rakin A, Karch H, Carniel E, Heesemann J. Prevalence of the "high-pathogenicity island" of *Yersinia* species among *Escherichia coli* strains that are pathogenic to humans. Infect Immun. 1998 Feb;66(2):480-5. DOI: 10.1128/IAI.66.2.480-485.1998
6. Karch H, Schubert S, Zhang D, Zhang W, Schmidt H, Olschläger T, et al. A genomic island, termed high-pathogenicity island, is present in certain non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* clonal lineages. Infect Immun. 1999 Nov;67(11):5994-6001. DOI: 10.1128/IAI.67.11.5994-6001.1999
7. Rakin A, Boolgakowa E, Heesemann J. Structural and functional organization of the *Yersinia pestis* bacteriocin pesticin gene cluster. Microbiology (Reading). 1996 Dec;142 (Pt 12):3415-24. DOI: 10.1099/13500872-142-12-3415
8. Patzer SI, Albrecht R, Braun V, Zeth K. Structural and mechanistic studies of pesticin, a bacterial homolog of phage lysozymes. J Biol Chem. 2012 Jul 6;287(28):23381-96. DOI: 10.1074/jbc.M112.362913
9. Lukacik P, Barnard TJ, Keller PW, Chaturvedi KS, Seddiki N, Fairman JW, et al. Structural engineering of a phage lysin that targets gram-negative pathogens. Proc Natl Acad Sci U S A. 2012 Jun 19;109(25):9857-62. DOI: 10.1073/pnas.1203472109
10. Noskova VD. Problems and prospects of development of the domestic market of standard samples. Molodye uchjonye Rossii: sbornik statej XIV Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii. Young scientists of Russia: collection of articles of the XIV All-Russian Scientific and Practical Conference. Penza: Publishing House Science and Enlightenment (IP Gulyaev G.Yu.), 2022;89-93. (In Russian).
11. Abramova EG, Lobovikova OA, Shul'gina IV, Komissarov AV, Savitskaya LV, Generalov SV, et al. Development of quality control sample to assess specific activity of anti-rabies immunoglobulin obtained from equine blood serum. Drug development & registration. 2017;4:160-164. (In Russian).
12. Volkova RA, Fadeikina OV, Klimov VI, Sakanyan EI, Olefir YuV, Merkulov VA, et al. Topical issues related to reference standards in the sphere of circulation of biological products. BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment. 2016;16(4):229-236. (In Russian).
13. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 1970 Aug 15;227(5259):680-5. DOI: 10.1038/227680a0

Информация о соавторах:

Копылов Павел Христофорович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии чумы отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Дентовская Светлана Владимировна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Анисимов Андрей Павлович, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории генетической инженерии и диагностики возбудителей особо опасных инфекций отдела особо опасных инфекций ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Pavel Kh. Kopylov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of Laboratory for Plague Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Svetlana V. Dentovskaya, MD, PhD, DSc, Chief Researcher of Laboratory for Plague Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Andrey P. Anisimov, MD, PhD, DSc, Professor, Chief Researcher of the Laboratory of Genetic Engineering and Diagnostics of Pathogens of Particularly Dangerous Infections of the Department of Particularly Dangerous Infections, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Генно-инженерные бактерии нарушают правило 20 аминокислот

Все природные организмы используют одни и те же 20 аминокислот в качестве строительных блоков для белков, но создание синтетической клетки с чуть более узким алфавитом может быть возможным. Исследователи использовали методы вычислительного дизайна белков и синтетической биологии, чтобы удалить все остатки изолейцина из рибосомальных белков бактерии. Модели белков на основе ИИ сыграли решающую роль в успехе этой работы, подчеркнув возможности генеративного дизайна. Эта работа открывает путь к созданию генетически перекодированных клеток с упрощенными компонентами и проливает свет на биохимические ограничения, которые могли сформировать раннюю эволюцию.

Liu L, Rochereau C, Kozlov S, Urtecho G, Liu X, Zhao J, et al. Toward life with a 19-amino acid alphabet through generative artificial intelligence design. Science. 2026 Apr 30;392(6797):eaeb5171. DOI: 10.1126/science.aeb5171

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 30–38
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 30–38

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-30-38

Применение кишечнорастворимых капсул для пероральной трансплантации микробиоты кишечника на макаках резусах (*Macaca mulatta*)

В.И.Полякова, А.В.Демерчян, Е.И.Мухаметзянова, М.А.Котова, И.М.Аршба

Курчатовский комплекс медицинской приматологии ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт», Сочи, Российская Федерация

Нарушение состава кишечной микробиоты ассоциировано с широким спектром патологий. Трансплантация микробиоты кишечника (ТМК) признана эффективным методом ее коррекции. Пероральные кишечнорастворимые капсулы представляют собой удобную и безопасную форму доставки, однако на макаках резусах (*Macaca mulatta*) этот способ ранее не изучался.

Целью исследования являлось изучение влияния пероральной ТМК с применением кишечнорастворимых капсул на макаках резусах.

Материалы и методы. В исследовании использовано 20 макак резусов, из которых 8 составили группу доноров, а 12 животных были распределены на 3 экспериментальные группы. Антибиотик-ассоциированную диарею моделировали пероральным введением цефиксима и внутримышечным введением амоксигарда. В ходе работы отработан полный протокол, включающий отбор доноров, сбор, обработку и криоконсервацию фекального материала. Трансплантат в форме капсул, покрытых кишечнорастворимой оболочкой, вводили однократно.

Результаты ТМК показали, что введение капсул не вызывало стойких нарушений стула, температуры или массы тела (за исключением физиологического увеличения веса у здоровых животных, получавших капсулы с микробиотой). Гематологические и биохимические сдвиги носили транзиторный характер и к 28-му дню возвращались к норме без признаков системного воспаления. В группах с антибиотик-ассоциированным дисбиозом наблюдалось достоверное кратковременное увеличение содержания *Lactobacillus* spp., *Escherichia coli*, *Bacteroides* spp., *Faecalibacterium prausnitzii* и соотношения *Bacteroides fragilis* group / *F. prausnitzii* с последующей нормализацией микробиоценоза. У здоровых особей значимых изменений микробиоты не отмечено.

Заключение. Пероральная капсулированная ТМК безопасна для макак резусов, не вызывает стойких нарушений гомеостаза и эффективно восстанавливает микробиоценоз после антибиотик-ассоциированной диареи, что обосновывает ее применение в биомедицинских исследованиях.

Ключевые слова: обезьяны, макаки резусы, микробиота кишечника, биологическая модель, трансплантация микробиоты кишечника

Для цитирования: Полякова В.И., Демерчян А.В., Мухаметзянова Е.И., Котова М.А., Аршба И.М. Применение кишечнорастворимых капсул для пероральной трансплантации микробиоты кишечника на макаках резусах (*Macaca mulatta*). Бактериология. 2026; 11(2): 30–38. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-30-38

Use of enteric-coated capsules for oral gut microbiota transplantation in rhesus macaques (*Macaca mulatta*)

V.I.Polyakova, A.V.Demerchyan, E.I.Mukhametzyanova, M.A.Kotova, I.M.Arshba

Kurchatov Complex of Medical Primatology of NRC «Kurchatov Institute», Sochi, Russian Federation

Disturbance of the gut microbiota composition is associated with a wide range of pathologies. Gut microbiota transplantation (GMT) is recognized as an effective method for its correction. Oral soluble capsules provide a convenient and safe delivery form; however, in rhesus macaques (*Macaca mulatta*), this method has not previously been studied.

The aim of the study was to investigate the effects of oral gut microbiota transplantation (GMT) using enteric-coated capsules in rhesus macaques.

Materials and methods. The study involved 20 rhesus macaques, eight of which served as donors, and 12 animals were divided into three experimental groups. Antibiotic-associated diarrhea was modeled by oral administration of cefixime and intramuscular administration of amoxicard. A complete protocol was developed, including donor selection, collection, processing, and cryopreservation of fecal material. The transplant, in the form of enteric-coated capsules, was administered once.

Для корреспонденции:

Полякова Вероника Игоревна, научный сотрудник лаборатории микробиологии и вирусологии, Курчатовский комплекс медицинской приматологии ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт»

Адрес: 354376, Сочи, с. Весёлое, Адлерский р-н, ул. акад. Лапина, 177

Статья поступила 15.05.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Veronika I. Polyakova, Researcher, Laboratory of Microbiology and Virology, Kurchatov Complex of Medical Primatology of NRC «Kurchatov Institute»

Address: 177 Akad. Lapin str., Vesyoloye Village, Adler District, Sochi, 354376, Russian Federation

The article was received 15.05.2026, accepted for publication 30.06.2026

Results. The GMTs showed that administration of the capsules did not cause persistent changes in stool, temperature, or body weight (except for physiological weight gain in healthy animals receiving the microbiota capsules). Hematological and biochemical changes were transient and returned to normal by day 28, without signs of systemic inflammation. In the groups with antibiotic-associated dysbiosis, a significant short-term increase in the levels of *Lactobacillus* spp., *Escherichia coli*, *Bacteroides* spp., *Faecalibacterium prausnitzii* and the *Bacteroides fragilis* group /*F. prausnitzii* ratio were observed, followed by normalization of the microbiome. In healthy animals, no significant changes in the microbiome were observed.
Conclusion. Oral encapsulated GMT is safe for rhesus macaques, does not induce persistent disturbances of homeostasis, and effectively restores the microbiocenosis after antibiotic-associated diarrhea, which justifies its use in biomedical research.
Key words: monkeys, rhesus monkeys, gut microbiota, biological model, gut microbiota transplantation

For citation: Polyakova V.I., Demerchyan A.V., Mukhametzyanova E.I., Kotova M.A., Arshba I.M. Use of enteric-coated capsules for oral gut microbiota transplantation in rhesus macaques (*Macaca mulatta*). Bacteriology. 2026; 11(2): 30–38. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-30-38

Микробиота кишечника играет ключевую роль в поддержании гомеостаза, метаболизма и иммунной защиты организма. Дисбиоз, вызванный антибиотикотерапией, инфекциями или нерациональным питанием, связан с широким спектром заболеваний – от инфекции, ассоциированной с *Clostridioides difficile*, до метаболического синдрома и нейропсихических расстройств [1].

Одним из наиболее эффективных методов восстановления нормальной микробиоты является трансплантация микробиоты кишечника (ТМК) – метод лечения, основанный на переносе функциональной микробиоты от здорового донора реципиенту с целью восстановления нормального состава и функций кишечной микрофлоры [2].

Капсульная форма ТМК представляет собой удобный пероральный метод доставки, доказавший свою безопасность и эффективность [3], хотя традиционные способы остаются альтернативой: например, введение через назогастральные, назодуоденальные и назоеюнальные зонды, клизму или колоноскопию [4].

Макаки резусы (*Macaca mulatta*) являются наиболее распространенными нечеловеческими приматами, используемыми в биомедицинских исследованиях [5]. Кишечная микробиота этих обезьян имеет значительное сходство с человеческой. Исследования подтверждают, что в их микробиоте доминируют те же типы бактерий (*Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteriota*) и она подвержена аналогичным возрастным изменениям [6, 7]. Кроме того, макаки подвержены схожим с человеком заболеваниям, связанным с дисбиозом, включая антибиотико-ассоциированную диарею, метаболические нарушения и иммуновоспалительные процессы.

Использование макак позволяет отработать параметры ТМК (частоту введения, дозу, методы подготовки донора) для последующего применения в биомедицинских исследованиях, оценить долгосрочную безопасность, включая риск передачи полирезистентных микроорганизмов, а также разработать протоколы обследования и криоконсервации, которые затем будут перенесены в клинику.

Ряд исследований подтвердили возможность применения пероральной ТМК у нечеловеческих приматов. В частности, в рандомизированном контролируемом исследовании показано, что пероральное проведение фекальной бактериотерапии макакам резусам с хронической диареей приводит к улучшению показателей стула в лечебной группе по сравнению с исходным уровнем, хотя при сравнении с плацебо различия не достигли статистической значимости [8]. Дальнейшие исследования на яванских макаках продемонстрировали, что трансплантация через колоноскоп или назогастральный зонд хорошо переносится и не вызывает отрицательных клинических побочных эффектов, а также способствует положительным изменениям микробиома и иммунных параметров [9]. Рядом авторов также изучалась эффективность трансплантации фекальной микрофлоры на обыкновенных игрунках (*Callithrix jacchus*) методом орального зондирования, что позволило купировать диарею, потерю веса и нормализовать бактериальный состав [10–12].

На сегодняшний день публикации о ТМК с использованием кишечнорастворимых капсул непосредственно на макаках резусах отсутствуют. Однако имеются единичные исследования по разработке капсульных форм для ТМК в гуманной медицине и ветеринарии [2, 13, 14].

Цель исследования – изучение влияния пероральной трансплантации микробиоты кишечника с применением кишечнорастворимых капсул на макаках резусах.

Материалы и методы

В исследование были включены 20 клинически здоровых макак резусов (*Macaca mulatta*). Из них 8 особей составили группу доноров, а 12 особей – экспериментальную группу в модели ТМК (табл. 1).

Обезьяны находились в специальном помещении для содержания животных, в индивидуальных клетках с автоматическими поилками, на которых указаны номера обезьян. В помещении для содержания обезьян поддерживали температуру воздуха 22–28°С, относительную влажность 40–70% и естественную продолжительность светового дня. Животным обеспечивали сбалансированный по белкам, жирам и углеводам рацион: согласно установленным нормам, они получали гранулированный корм собственного производства в соответствии с ГОСТ [15], хлеб и фрукты.

Протокол отбора донора

На основании анализа данных по отбору доноров для ТМК, а также с учетом особенностей инфекционных болезней человека и лабораторных приматов в исследование были включены потенциальные доноры (макаки), соответствующие следующим критериям: отсутствие диареи и других острых состояний, а также антибиотикотерапии в последние 3 мес. Протокол по отбору доноров включал обязательное проведение общего и биохимического анализов крови, а также расширенное микробиологическое и молекулярно-генетическое исследование кала для исключения вирусных (гепатиты А, В, С, Е, аденовирус, ротавирус, норовирус, цитомегаловирус, вирус Эпштейна–Барр, вирус простого

Таблица 1. **Распределение экспериментальных животных по группам**
*Table 1. **Distribution of experimental animals into groups***

Группа / *Group*	Количество животных / *Number of animals*	Исследуемое вещество, контрольный образец / *Test substance/control sample*	Доза / *Dose*
Группа 1 (опытная) – ААД + ТМК / *Group 1 (experimental) – AAD + GMT*	4	Капсулы-МК / *Capsules-GM*	1 капсула/кг / *1 capsule/kg*
Группа 2 (опытная) – ААД + плацебо / *Group 2 (experimental) – AAD + placebo*	4	Капсулы-плацебо / *Placebo-capsules*	1 капсула/кг / *1 capsule/kg*
Группа 3 (контрольная) – здоровые обезьяны + *ТМК / Group 3 (control) – healthy monkeys + GMT*	4	Капсулы-МК / *Capsules-GM*	1 капсула/кг / *1 capsule/kg*

ААД – антибиотик-ассоциированная диарея; ТМК – трансплантация микробиоты кишечника; МК – микробиота кишечника.
AAD – antibiotic-associated diarrhea; GMT – gut microbiota transplantation; GM – gut microbiota.

герпеса 1-го, 2-го типа), бактериальных (возбудители острых кишечных инфекций, *Campylobacter jejuni*, *Helicobacter pylori*, *Yersinia enterocolitica/pseudotuberculosis*, ванкомицин-резистентные энтерококки, метициллин-резистентный стафилококк, грамотрицательные бактерии – продуценты карбапенемаз и β-лактамаз расширенного спектра, *C. difficile/perfringens*) и паразитарных инфекций (*Balantidium coli*, *Blastocystis hominis*, *Cryptosporidium*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichocephalus trichiurus*) в сочетании с определением уровня фекального кальпротектина как маркера скрытого воспаления кишечника. Положительный результат по любому из показателей или повышение уровня кальпротектина служили критерием исключения донора. На основании проведенного скрининга донорами микробиоты кишечника отобраны 3 особи.

Сбор фекальных образцов

Сбор материала (фекальных образцов) проводили с утра, после уборки помещений и мытья поддонов. Под каждой клеткой были установлены металлические поддоны для сбора фекальных образцов. Материал в стерильных контейнерах доставляли в лабораторию в течение 30 мин для дальнейшей обработки.

Полимеразная цепная реакция

Предварительную обработку фекальных образцов проводили валидированными методами в соответствии с требованиями и методическими указаниями [16, 17].

Выделение ДНК из фекальных образцов проводили с использованием комплекта реагентов на основе термического лизиса «Экспресс-ДНК-Био» (ООО «Компания Алкор Био», Россия) в соответствии с инструкцией производителя.

Молекулярно-генетический анализ 24 микробиологических показателей был выполнен с использованием набора реагентов «КОЛОНОФЛОР-16 (биоценоз)» (ООО «АльфаЛаб», Россия). Детекцию результатов осуществляли на амплификаторе CFX-96 (Bio-Rad Laboratories, Inc., США).

Изготовление капсульной формы трансплантата

10 г свежих фекалий разводили в стерильном фосфатном буфере (PBS), содержащем 5% сахарозы, в качестве криопротектора (соотношение объемов образца фекалий и буфера составляло 1/4). Гомогенизат центрифугировали в течение 5 мин на центрифуге с ускорением 300 g. Супернатант отделяли и полученную суспензию разливали во флаконы объемом 25–30 мл (высота слоя 7–15 мм) и замораживали при -80°С для хранения и дальнейшей лиофильной сушки.

Флаконы с замороженной субстанцией помещали в сублиматор сушильной установки. Высушивание микробной субстанции для трансплантации кишечной микробиоты осуществляли в лабораторной сублимационной установке FreeZone 6 (Labconco, США) посредством конвективного подвода тепла к замороженному материалу через плиту, на которой располагался обезвоживаемый материал во флаконах.

По окончании процесса обезвоживания высушенную субстанцию извлекали из флаконов, измельчали. Остаточную влажность сухого препарата («потерю в массе при высушивании») определяли гравиметрическим методом. Измельченный сухой препарат использовали в качестве активной субстанции, которой заполняли капсулы для трансплантации фекальной микробиоты с помощью капсульной машины PRESSORE 100 Perni MC2. В работе использовали капсулы DR capsTM ACID-RESISTANT CAPSULES размера 4, дополнительно покрытые энтеросолюбильной оболочкой по разработанному нами протоколу [1]. Готовые капсулы хранили при -20°С (срок годности – 1 год с даты изготовления).

Микробиологическая характеристика капсул

Общая бактериальная масса (ОБМ) – $5 \cdot 10^8$ генокопий/г, *Lactobacillus* spp. – $9 \cdot 10^8$, *Bifidobacterium* spp. – $9 \cdot 10^{10}$, *Escherichia coli* – 10^7, *Bacteroides* spp. – 10^8, *F. prausnitzii* – $3 \cdot 10^9$.

Общий анализ мочи

За 18 ч до анализа животных лишали корма (вода свободно). Мочу собирали с поддона клетки в пробирки. Анализ выполняли на анализаторе DocUReader 2 PRO (77 ELEKTRONIKA, Венгрия) с тест-полосками того же производителя.

Гематологические и биохимические исследования крови

Кровь для общего и биохимического анализов брали утром до кормления животных из бедренной вены (v. femoralis) в вакуумные пробирки Vacuette (Германия): 1 мл с К3 ЭДТА и 4 мл с активатором свертывания и гелем. Для получения сыворотки пробирки отстаивали 30 мин при комнатной температуре или 15 мин при 37°С, затем центрифугировали 15 мин при 1500 g (ОПн-3, ОАО ТНК «DASTAN», г. Бишкек). Сыворотку без гемолиза переносили в стерильные пробирки по 1,5 мл. Общий анализ крови выполняли на гематологическом анализаторе MEK-7300 K (NIHON KOHDEN, Япония), биохимический – на анализаторе Biolit-8020 (Китай).

Моделирование антибиотик-ассоциированной диареи

Животным в группах 1 и 2 в течение 7 дней перорально однократно вводили цефиксим-экспресс и амоксигард вну-

Таблица 2. **Балльная система оценки физической характеристики стула у обезьян**
Table 2. ***Scoring system for assessing the physical characteristics of stool in monkeys***

Норма, без слизи и крови / *Normal, without mucus and blood*	Кашицеобразный стул / *Porridge-like stool*	Жидкий стул / *Loose stools*	Водянистый стул / *Watery stool*
0	1	2	3

А – наличие крови; Б – наличие слизи.
A – presence of blood; B – presence of mucus.

тримышечно в расчете 100 мг/кг веса. Степень развития патологического процесса характеризовали по оценке характера стула, представленной в табл. 2.

Трансплантация микробиоты кишечника

Микробиоту кишечника в форме капсул вводили животным экспериментальных групп однократно перорально натощак после полной фиксации. Для введения использовали роторасширитель, шпатель для языка и интродьюсер. После каждой капсулы в ротовую полость медленно вводили 5–10 мл воды комнатной температуры через шприц. Плацебо (капсулы с сахарозой) вводили животным контрольной группы тем же способом, с той же кратностью и в том же объеме.

Наблюдения за общим состоянием животных и оценку характера стула проводили ежедневно в течение всего эксперимента. Термометрию и взвешивание, показатели общего анализа крови, мочи, биохимические показатели сыворотки крови, а также микробиологические показатели проводили в следующих точках: фон, 1-й день, 3-й день, 7-й день, 14-й день, 28-й день после введения трансплантата. Определение фекального кальпротектина проводили до и после введения трансплантата через 28 дней.

Статистическая обработка данных

Статистическая обработка данных, их визуализация и анализ выполнены с использованием программного обеспечения OriginPro 8.6.

Для проверки статистической значимости различий в показателях внутри группы в нескольких временных точках применяли непараметрический критерий Фридмана. Данный критерий используется для сравнения трех и более связанных (повторных) измерений, когда данные не подчиняются нормальному распределению. В случае обнаружения значимых различий проводили попарные множественные сравнения с поправкой Данна. Нормальность распределения проверяли тестом Шапиро–Уилка. Все различия интерпретировали как достоверные при $p < 0,05$.

Результаты исследования

В результате исследования характера стула в течение эксперимента было отмечено, что у животных 1-й и 2-й группы с первого дня введения антибиотиков отмечен кашицеобразный стул, переходящий в жидкий у 2 особей из 8. При этом к 6-м суткам у всех стул вновь стал кашицеобразным или нормальным, тогда как у одной особи жидкий стул впервые появился на 8-й день (в день введения ТМК) и сохранялся также на 9-й день, после чего перешел в кашицеобразный. На 1-й день после введения капсул у обезьян 1-й группы стул был нормальным за исключением одной особи, у которой слизь уже не наблюдалась, однако стул перешел в кашицеобразный и через 2 суток стал нормальным. В группе плацебо после отмены антибиотиков в течение 5 дней отмечался кашицеобразный стул с последующим восстановлением до нормы. В группе 3 (здоровые особи, не получавшие антибиотики) введение капсул не вызвало изменений характера стула на протяжении всего эксперимента.

Для оценки динамики массы тела, температуры, показателей общеклинического и биохимического анализа крови, а также ключевых таксонов микробиоты кишечника в исследуемых группах использовали непараметрический критерий Фридмана (для повторных измерений). При обнаружении статистически значимой динамики проводили апостериорный анализ с поправкой Данна для множественных сравнений временных точек.

Анализ данных выявил достоверную динамику температуры тела только в группе 1 ($p = 0,008$), однако попарные сравнения не выявили ни одной пары временных точек с $p < 0,05$. Значения уровня температуры в данной группе демонстрировали тенденцию к повышению к концу наблюдения. Это может быть связано с плавным характером изменений.

Выявлена достоверная динамика изменения веса в группе 2 ($p = 0,017$) и группе 3 ($p = 0,033$). Однако конкретных пар временных точек в группе 2, между которыми различия достигают статистической значимости, не выявлено ($p > 0,05$), что может указывать на плавный характер изменений. Установлено, что в группе 3 имелось достоверное различие между фоновым значением и 28-м днем эксперимента ($p = 0,017$), что свидетельствует о достоверном увеличении веса к концу наблюдения.

Среди всех показателей общего анализа мочи только pH и удельный вес подлежали статистической обработке. Однако у животных в группах 1–3, получавших капсулы, достоверных изменений динамики в значениях pH не происходило. В группах 2 и 3 зафиксирована достоверная динамика удельного веса мочи на протяжении эксперимента ($p = 0,010$ и $p = 0,048$ соответственно). При этом попарные сравнения не позволили идентифицировать конкретные временные интервалы, между которыми различия достигают уровня значимости ($p > 0,05$). Данный результат может свидетельствовать о плавном характере изменений показателя в этих группах, без резких скачков между отдельными точками.

Следует отметить, что остальные показатели мочи (билирубин, уробилиноген, нитриты, кетоновые тела, аскорбиновая кислота, глюкоза, общий белок, эритроциты, лейкоциты) фиксировались только у единичных особей, что, вероятно, связано с их индивидуальными особенностями, а также не имели выраженной временной динамики, в связи с чем не были включены в сравнительный статистический анализ.

При оценке гематологических показателей выявлена достоверная динамика изучаемых параметров в зависимости от группы наблюдения для: уровня эритроцитов (RBC) – во всех трех группах (группа 1: $p = 0,049$; группа 2: $p = 0,031$; группа 3: $p = 0,020$); содержания гемоглобина (HGB) – в группах 2 и 3 ($p = 0,026$ и $p = 0,015$ соответственно); числа лейкоцитов (WBC) – в группе 1 ($p = 0,046$); в группе 3 – уровня лимфоцитов (LY) ($p = 0,022$), процентного содержания лимфоцитов (LY%) ($p = 0,026$) и моноцитов (MO%) ($p = 0,017$). Значения RBC в группах 1–3 и HGB в группах 2 и 3 демон-

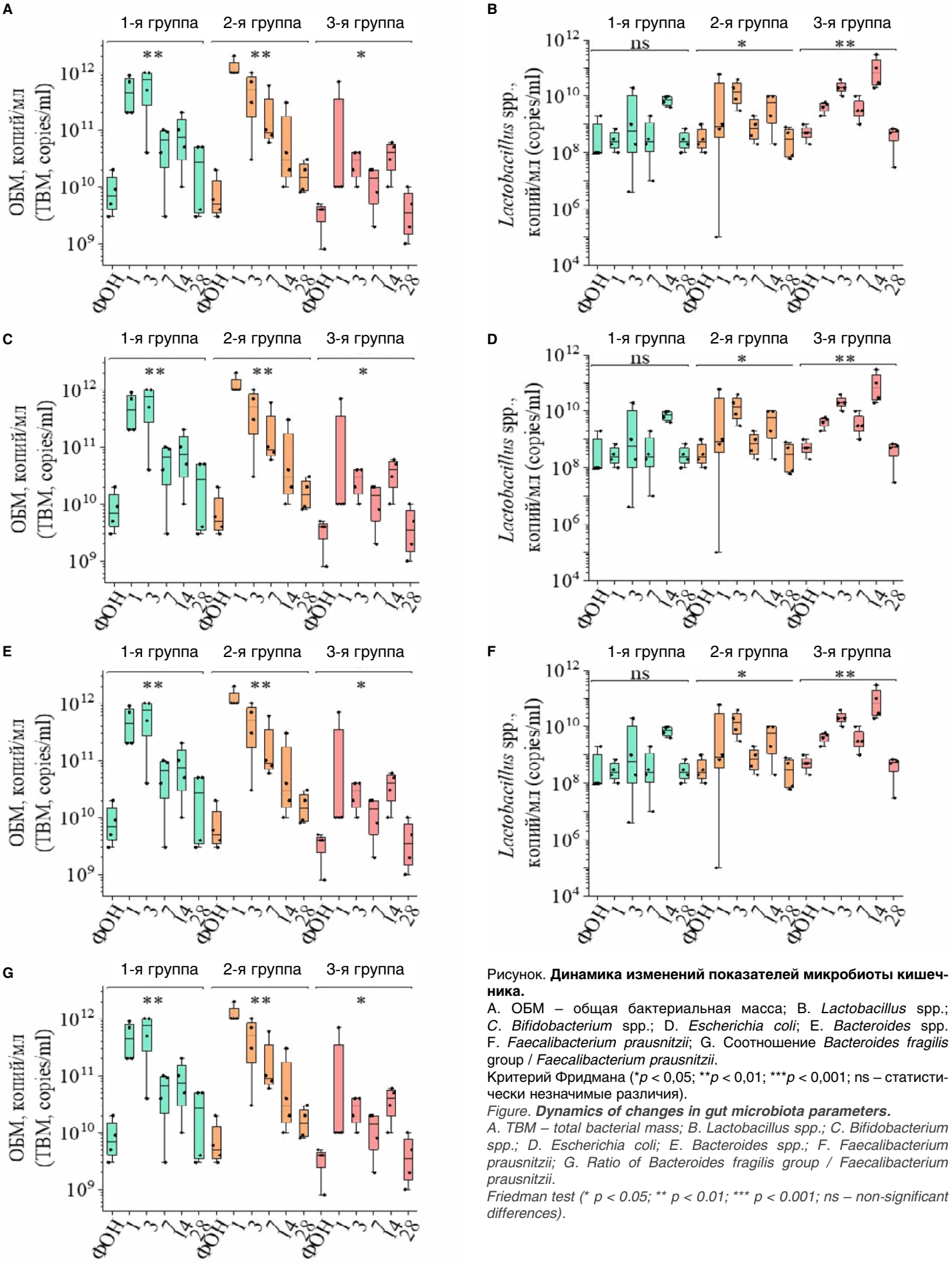


Рисунок. **Динамика изменений показателей микробиоты кишечника.**
A. ОБМ – общая бактериальная масса; B. *Lactobacillus* spp.; *C. Bifidobacterium* spp.; D. *Escherichia coli*; E. *Bacteroides* spp. F. *Faecalibacterium prausnitzii*; G. Соотношение *Bacteroides fragilis* group / *Faecalibacterium prausnitzii*.
Критерий Фридмана (*$p < 0,05$; **$p < 0,01$; ***$p < 0,001$; ns – статистически незначимые различия).
Figure. ***Dynamics of changes in gut microbiota parameters.***
A. TBM – total bacterial mass; B. Lactobacillus spp.; C. Bifidobacterium spp.; D. Escherichia coli; E. Bacteroides spp.; F. Faecalibacterium prausnitzii; G. Ratio of Bacteroides fragilis group / Faecalibacterium prausnitzii.
Friedman test ($p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; ns – non-significant differences).*

стрировали тенденцию к снижению в 1-е сутки после введения с последующим восстановлением к 28-м суткам. Изменения носили плавный характер без резких отличий между соседними временными точками.

После применения поправки на множественные сравнения статистически значимые различия между отдельными временными интервалами были получены для следующих показателей: в группе 1 уровень WBC на 28-е сутки достоверно ниже, чем на 14-е сутки (p = 0,037); в группе 3 уровень LY% на 28-е сутки достоверно ниже, чем на 7-е сутки (p = 0,020), а уровень MO% на 28-е сутки достоверно выше по сравнению с фоновыми значениями (p = 0,027). Для показателей RBC, HGB и LY, несмотря на наличие общей достоверной динамики, при попарном сравнении временных точек значимых различий после поправки на множественные сравнения не обнаружено (p > 0,05).

При анализе биохимических показателей сыворотки крови достоверная динамика изучаемых показателей во времени выявлена для уровня: амилазы – во всех трех группах (группа 1: p = 0,003; группа 2: p = 0,006; группа 3: p = 0,011); щелочной фосфатазы – в группе 1 (p = 0,029) и группе 3 (p = 0,029); общего билирубина – только в группе 1 (p = 0,009); аспартатаминотрансферазы (АСТ) – во всех трех группах (группа 1: p = 0,016; группа 2: p = 0,009; группа 3: p = 0,012); аланинаминотрансферазы (АЛТ) – в группе 2 (p = 0,011) и группе 3 (p = 0,011); мочевины – в группе 1 (p = 0,015) и группе 3 (p = 0,035); общего белка – только в группе 2 (p = 0,017); холестерина – во всех трех группах (группа 1: p = 0,031; группа 2: p = 0,033; группа 3: p = 0,013); глюкозы – только в группе 3 (p = 0,044); креатинина – в группе 2 (p = 0,005) и группе 3 (p = 0,005), а также С-реактивного белка (СРБ) – в группе 1 (p = 0,031) и группе 2 (p = 0,022). В группах 1–3 полностью отсутствовала динамика (p > 0,05 во всех трех группах) для показателей: K^+ и Na^+.

После применения поправки на множественные сравнения статистически значимые различия между отдельными временными точками были получены для следующих показателей: уровень амилазы в группе 1 снижается на 7-е сутки по сравнению с 1-ми (p = 0,020) и 3-ми сутками (p = 0,020); в группе 2 снижение на 7-е (p = 0,010) и 28-е сутки (p = 0,020) по сравнению с 3-ми сутками; в группе 3 снижение на 7-е сутки по сравнению с 3-ми сутками (p = 0,005); снижение уровня общего билирубина на 14-е сутки по сравнению с 3-ми сутками (p = 0,020); снижение уровня АСТ на 14-е сутки по сравнению с 1-ми сутками в группе 1 (p = 0,007) и группе 2 (p = 0,020), а также снижение на 28-е сутки по сравнению с 1-ми сутками в группе 3 (p = 0,020); также отмечено снижение уровня АЛТ на 28-е сутки по сравнению с 1-ми сутками группах 2 и 3 (p = 0,037 и p = 0,005 соответственно); снижение уровня мочевины на 3-и сутки относительно фона в группе 1 (p = 0,010); в группе 1 выявлено статистически значимое повышение уровня холестерина на 7-е сутки по сравнению с фоном; снижение уровня глюкозы на 7-е сутки по сравнению с 1-ми сутками (p = 0,020) в группе 3; в группе 2 – снижение креатинина уровня на 7-е сутки по сравнению с 3-ми сутками (p = 0,005), а также на 28-е сутки по сравнению с 3-ми сутками (p = 0,037); в группе 3 – повышение креатинина на 3-и сутки по сравнению с фоном (p = 0,014) и с 1-ми сутками (p = 0,020). Для показателей щелочной фосфатазы (группы 1 и 3) и общего белка (группа 2) общая динамика была достоверной, однако после поправки на множественные сравнения значимых различий между конкретными временными точками не обнаружено (p > 0,05).

Для оценки влияния трансплантации микробиоты кишечника в форме капсул проведен анализ ключевых микробиологических показателей (рисунок).

В каждой группе зафиксированы статистически значимые изменения значений ОБМ между различными временными точками наблюдения (рисунок, A). Несмотря на подтвержденную общую статистическую значимость динамики в группе 1 (p = 0,006) и группе 3 (p = 0,029), пост-хок анализ не выявил ни одной пары временных точек с достоверным различием после поправки на множественные сравнения (все p > 0,05). Высокодостоверная динамика ОБМ выявлена в группе 2 (p = 0,003): статистически значимое увеличение ОБМ на 1-е сутки по сравнению с фоном (p = 0,007).

Достоверная динамика *Lactobacillus* spp. установлена в группе 2 (p = 0,023) и группе 3 (p = 0,002). В группе 1 статистически значимых изменений не выявлено (p > 0,05) (рисунок, b). Анализ с поправкой на множественные сравнения показал статистически значимое снижение уровня *Lactobacillus* spp. к 28-м суткам по сравнению с пиковым значением на 3-и сутки в группе 2 (p = 0,037). В группе 3 установлено достоверное увеличение уровня *Lactobacillus* spp. на 14-е сутки по сравнению с фоном (p = 0,027), с последующим достоверным снижением на 28-е сутки по сравнению с уровнем на 14-е сутки (p = 0,027).

Во всех группах изменения средних уровней *Bifidobacterium* spp. во времени не достигали порога статистической значимости (p > 0,05) (рисунок, C). Наблюдаемые колебания средних значений (например, подъем на 1-е сутки в группе 1) не были достоверными на уровне распределения данных. Визуальный анализ средних значений в группе 3 указывает на возможный рост к 3-м суткам с последующим снижением.

Достоверные изменения в динамике уровня *E. coli* зафиксированы в группе 1 (p = 0,008) и группе 2 (p = 0,002) (рисунок, D). В группе 1 отмечено увеличение уровня *E. coli* на 1-е сутки относительно фоновых значений, находящееся на пороге статистической значимости (p = 0,051). На 3-и сутки различия с фоном стали достоверными (p = 0,020). В группе 2 наблюдалось достоверное увеличение уровня *E. coli* на 1-е сутки по сравнению с фоном (p = 0,002), а также достоверное снижение уровня на 28-е сутки по сравнению с 1-ми сутками (p = 0,037).

Достоверная динамика уровня *Bacteroides* spp. установлена в группе 1 (p = 0,003) и группе 2 (p = 0,003) (рисунок, E). В группе 1 статистически значимое увеличение уровня *Bacteroides* spp. зафиксировано на 1-е (p = 0,010) и 3-и сутки (p = 0,010) по сравнению с фоновыми значениями. В группе 2 выявлена схожая картина: достоверное увеличение уровня на 1-е (p = 0,005) и 3-и сутки (p = 0,020) по сравнению с исходным уровнем. В обеих группах к 28-м суткам отмечено визуальное снижение к концу наблюдения.

Статистически значимые изменения *F. prausnitzii* во времени выявлены только в группе 1 (p = 0,021), где уровень значимо повышался на 1-е сутки (p = 0,027) (рисунок, F).

Достоверные изменения отношения *B. fragilis* group / *F. prausnitzii* зафиксированы в группе 1 (p = 0,019) и группе 2

(p = 0,008) (рисунок, G). В группе 1 выявлено достоверное увеличение относительно фона на 1-е сутки (p = 0,037). Отмечалось повышение показателя на 3-и сутки, однако оно не достигло статистической значимости (p = 0,122). В группе 2 единственным статистически значимым оставалось различие увеличение на 1-е сутки относительно фона (p = 0,005). В группе 3 статистически значимой динамики показателя в течение эксперимента не обнаружено (p = 0,883). Медианные значения в этой группе оставались стабильно низкими на всем протяжении исследования, что указывает на сохранение баланса анаэробной микробиоты.

Ряд микроорганизмов, постоянно присутствующих в микробиоте здоровых макак резусов (*C. difficile*, *C. perfringens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus* spp. и т.д.) [2, 3], характеризовались нерегулярной встречаемостью и высокой межиндивидуальной вариабельностью концентраций, что сделало невозможным проведение корректного статистического анализа.

Обсуждение

Введение капсул с микробиотой не вызывало стойких нарушений стула у животных: кратковременные изменения носили транзиторный характер, а у здоровых особей (группа 3) стул оставался нормальным на протяжении всего эксперимента. Эти данные согласуются с результатами ТМК у других животных, при которых расстройства желудочно-кишечного тракта разрешаются самостоятельно без серьезных исследований [12, 18], в отличии от людей жидкий стул регистрируется в течение первых 24 ч, с последующим восстановлением в течении 1–2 нед. [19]. Полученные результаты свидетельствуют о благоприятном профиле безопасности трансплантации микробиоты кишечника в отношении желудочно-кишечного тракта.

У животных всех групп не зафиксировано клинически значимых отклонений температуры тела и показателей мочи, за исключением плавных, статистически не значимых при попарных сравнениях колебаний. Достоверное увеличение массы тела к 28-м суткам в группе 3 (здоровые особи) свидетельствует о нормальном физиологическом статусе. Аналогичные данные о стабильном росте массы тела наблюдались у контрольных животных после ТМК [12, 18].

Несмотря на выявленную достоверную динамику отдельных гематологических параметров (RBC во всех трех группах; HGB в группах 2 и 3; WBC в группе 1; LY, LY% и MO% в группе 3), полученные результаты в совокупности свидетельствуют об отсутствии системного воспалительного эффекта.

Ключевым обоснованием служат следующие факты – все отмеченные сдвиги (например, снижение RBC и HGB в 1-е сутки) носили кратковременный характер. После поправки на множественные сравнения единичные статистически значимые различия между временными точками были зафиксированы лишь для WBC, LY% и MO%, при этом они не формировали устойчивого патологического паттерна. На конечном этапе наблюдения ни один из показателей не имел клинически значимого отклонения от фоновых значений, что исключает развитие анемии, лейкоцитоза, лейкопении или иммуновоспалительного дисбаланса.

Все статистически значимые изменения в биохимических показателях (повышение СРБ, креатинина; колебания амилазы, АСТ, АЛТ, мочевины, глюкозы, холестерина) наблюдались только в отдельных временных точках и не носили прогрессирующего характера. К 28-м суткам наблюдения все показатели возвращались к исходным (фоновым) значениям. Ни для одного из параметров не зафиксировано стойкого отклонения, выходящего за пределы физиологической нормы. Кратковременное повышение СРБ в группе 1 на 1-е сутки отражает ожидаемый острофазовый ответ без признаков хронического воспаления [20]. Отсутствие динамики электролитов (K^+, Na^+) исключает грубые нарушения гомеостаза.

Трансплантация микробиоты кишечника в капсулах приводила к достоверным изменениям общей бактериальной массы, уровней *Lactobacillus* spp., *E. coli*, *Bacteroides* spp., *F. prausnitzii* и соотношения *B. fragilis* group / *F. prausnitzii*, преимущественно в группах 1 и 2, получавших антибиотики. В большинстве случаев к 28-м суткам показатели возвращались к исходным значениям, а в группе 3 (здоровые особи) значимых сдвигов не наблюдалось либо они носили физиологический характер. Эти изменения отражают ожидаемую динамику: антибиотики нарушают микробиоту, а ТМК приводит к нормализации ключевых таксонов (*Lactobacillus* spp. и *F. prausnitzii* как маркеры здоровой микробиоты), без стойкого дисбаланса [21].

Таким образом, введение капсул с микробиотой кишечника не вызывает стойких изменений стула, температуры тела, массы тела и показателей мочи, а также не нарушает гематологического и биохимического гомеостаза. Это подтверждает отсутствие системного воспалительного или токсического эффекта, связанного с трансплантацией микробиоты кишечника. Полученные результаты подтверждают, что ТМК способствует восстановлению микробиоценоза после антибиотико-ассоциированных нарушений, не вызывая стойкого дисбаланса анаэробной флоры, что обосновывает безопасность и эффективность применения капсул [14, 22].

Заключение

Капсулированная форма трансплантации микробиоты кишечника на макаках резусах демонстрирует безопасность и эффективность, так как не вызывает стойких клинических, гематологических, биохимических и микробиотических нарушений, а также способствует восстановлению нормобиоценоза после антибиотико-ассоциированной диареи.

Финансирование работы

Работа выполнена в рамках НИР 1ф-МП.1 ФГБУ Курчатовского комплекса медицинской приматологии НИЦ «Курчатовский институт».

Funding

The work was carried out as part of research project 1f-MP.1 of the Kurchatov Complex of Medical Primatology of the National Research Center «Kurchatov Institute».

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Соблюдение этических стандартов

Все процедуры, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами Российской Федерации, принципам Базельской декларации и требованиям Европейской Конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или иных целей, ETS №123 и Директивы №2010/63/EU, принятой Европейским Парламентом 22 сентября 2010. Протокол исследования одобрен этическим комитетом организации (ФГБНУ «НИИ МП») – №91 от 12.04.2021, в соответствии с требованиями законодательства Российской Федерации.

Compliance with Ethical Standards

All procedures performed in studies involving animals complied with ethical standards established by Russian legislation, the principles of the Basel Declaration, and the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Purposes, ETS No 123, and Directive No 2010/63/EU, adopted by the European Parliament on September 22, 2010. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the organization (Research Institute of Animal Medicine) – No 91 dated April 12, 2021, in accordance with the requirements of Russian legislation.

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 this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

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.

Благодарности

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Примат».

Acknowledgment

The research was carried out at the «Primat» Shared Research Facilities using its equipment.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Власов ВВ, Морозов ВВ. Российский опыт трансплантации фекальной микробиоты. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2023;4:113-120. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-212-4-113-120
2. Yu H, Zhang Y, Yang D, Luo H, Zhou Y. Advances in capsule-based fecal microbiota transplantation: clinical applications and innovations. J Transl Med. 2025 Dec 2;23(1):1370. DOI: 10.1186/s12967-025-07407-0
3. Quraishi MN, Moakes CA, Yalchin M, Blackwell C, Segal J, Ives NJ, et al. Mechanistic insights into fecal microbiota transplantation for the treatment of ulcerative colitis: analysis of the STOP-Colitis trial. J Crohns Colitis. 2026 Mar 10;20(3):jjag006. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjag006
4. Tiwari R, Paswan A, Tiwari G, Reddy VJS, Posa MK. Perspectives on Fecal Microbiota Transplantation: Uses and Modes of Administration. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi. 2025 Jul 1;41:e20250014. DOI: 10.62958/j.cjap.2025.014
5. Hannibal DL, Bliss-Moreau E, Vandeleest J, McCowan B, Capitanio J. Laboratory rhesus macaque social housing and social changes: Implications for research. Am J Primatol. 2017 Jan;79(1):1-14. DOI: 10.1002/ajp.22528
6. Полякова ВИ, Кривонос ДВ, Климина КМ, Веселовский ВА, Орлов АВ, Федоров ДЕ, и др. Возрастные особенности композиции микробиоты кишечника макак резусов, содержащихся в условиях неволи. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2024;42(3):22-28. DOI: 10.17116/molgen20244203122
7. Полякова ВИ, Пушкарев АП, Демерчян АВ, Аршба ИМ, Попов АВ. Референсные значения показателей кишечной микробиоты макак резусов, установленные методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2026;103(2):252-262. DOI: 10.36233/0372-9311-793
8. Ferrecchia CE, Hobbs TR. Efficacy of oral fecal bacteriotherapy in rhesus macaques (*Macaca mulatta*) with chronic diarrhea. Comp Med. 2013 Feb;63(1):71-5.
9. Hensel ME, Caviness K, MacNeill A, et al. Fecal microbiota transplantation in cynomolgus macaques: a pilot study. J Med Primatol. 2015 Oct;44(5):281-9. DOI: 10.1111/jmp.12185
10. Inoue R, Sano T, Suda W, et al. Fecal microbiota transplantation for the treatment of chronic diarrhea in common marmosets (*Callithrix jacchus*). Exp Anim. 2016;65(3):287-96. https://doi.org/10.1538/expanim.16-0003
11. Ross CN, Reveles KR. Feasibility of fecal microbiota transplantation via oral gavage to safely alter gut microbiome composition in marmosets. Am J Primatol. 2020;82:e23196. DOI: 10.1002/ajp.23196
12. Дробот ГЮ, Шебеко СК, Ермаков АМ. Использование процедуры трансплантации фекальной микробиоты в ветеринарии (обзор). Ветеринария сегодня. 2024;13(4):314-321. DOI: 10.29326/2304-196X-2024-13-4-314-321
13. Melikhova AV, Ilina EN, Mokhirev Dyu, Benediktova YaD, Pavlenko AV, Polyakova VI, et al. Biotechnological and microbiological aspects of development of capsule form for fecal microbiota transplantation. World Journal of Advanced Research and Reviews. 2024;24(02):682-689. DOI: 10.30574/wjarr.2024.24.2
14. Halaweish HF, Boatman S, Staley C. Encapsulated Fecal Microbiota Transplantation: Development, Efficacy, and Clinical Application. Front Cell Infect Microbiol. 2022 Mar 17;12:826114. DOI: 10.3389/fcimb.2022.826114
15. ГОСТ 34566-2019 «Комбикорма полнорационные для лабораторных животных».
16. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней».
17. МУ 1.3.2569-09 Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV групп патогенности.

18. Lee MA, Questa M, Wanakumjorn P, Kol A, McLaughlin B, Weimer BC, et al. Safety profile and effects on the peripheral immune response of fecal microbiota transplantation in clinically healthy dogs. J Vet Intern Med. 2024 May-Jun;38(3):1425-1436. DOI: 10.1111/jvim.17061
19. Gaonkar P. Safety and potential risks with fecal microbiota transplantation. Contemporary topics in patient safety. Vol 1. 2022. DOI: 10.5772/intechopen.95907
20. Zhang T, Cui B, Li P, He Z, Long C, Wei L, et al. Short-Term Surveillance of Cytokines and C-Reactive Protein Cannot Predict Efficacy of Fecal Microbiota Transplantation for Ulcerative Colitis. PLoS One. 2016 Jun 27;11(6):e0158227. DOI: 10.1371/journal.pone.0158227
21. Ruszkowski J, Kachlik Z, Walaszek M, Storman D, Podkowa K, Garbarczuk P, et al. Fecal microbiota transplantation from patients into animals to establish human microbiota-associated animal models: a scoping review. J Transl Med. 2025 Jun 17;23(1):662. DOI: 10.1186/s12967-025-06645-6
22. Kragsnaes MS, Kjeldsen J, Horn HC, Munk HL, Pedersen JK, Just SA, et al. Response to: 'Correspondence on 'Safety and efficacy of faecal microbiota transplantation for active peripheral psoriatic arthritis: an exploratory randomised placebo-controlled trial'' by McGonagle et al. Ann Rheum Dis. 2023 Jul;82(7):e165. DOI: 10.1136/annrheumdis-2021-220910

References

1. Vlasov VV, Morozov VV. Russian experience in fecal microbiota transplantation. Experimental and Clinical Gastroenterology. 2023;4:113-120. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-212-4-113-120 (In Russian).
2. Yu H, Zhang Y, Yang D, Luo H, Zhou Y. Advances in capsule-based fecal microbiota transplantation: clinical applications and innovations. J Transl Med. 2025 Dec 2;23(1):1370. DOI: 10.1186/s12967-025-07407-0
3. Quraishi MN, Moakes CA, Yalchin M, Blackwell C, Segal J, Ives NJ, et al. Mechanistic insights into fecal microbiota transplantation for the treatment of ulcerative colitis: analysis of the STOP-Colitis trial. J Crohns Colitis. 2026 Mar 10;20(3):jjag006. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjag006
4. Tiwari R, Paswan A, Tiwari G, Reddy VJS, Posa MK. Perspectives on Fecal Microbiota Transplantation: Uses and Modes of Administration. Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi. 2025 Jul 1;41:e20250014. DOI: 10.62958/j.cjap.2025.014
5. Hannibal DL, Bliss-Moreau E, Vandeleest J, McCowan B, Capitanio J. Laboratory rhesus macaque social housing and social changes: Implications for research. Am J Primatol. 2017 Jan;79(1):1-14. DOI: 10.1002/ajp.22528
6. Polyakova VI, Krivonos DV, Klimina KM, Veselovsky VA, Orlov AV, Fedorov DE, et al. Age-related features of the gut microbiota composition of Rhesus monkeys kept in captivity. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2024;42(3):22-28. DOI: 10.17116/molgen20244203122 (In Russian).
7. Polyakova VI, Pushkarev AP, Demerchyan AV, Arshba IM, Popov AV. Reference values for gut microbiota parameters in rhesus macaques established by real-time polymerase chain reaction. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. 2026;103(2):252-262. DOI: 10.36233/0372-9311-793 (In Russian).
8. Ferrecchia CE, Hobbs TR. Efficacy of oral fecal bacteriotherapy in rhesus macaques (*Macaca mulatta*) with chronic diarrhea. Comp Med. 2013 Feb;63(1):71-5.
9. Hensel ME, Caviness K, MacNeill A, et al. Fecal microbiota transplantation in cynomolgus macaques: a pilot study. J Med Primatol. 2015 Oct;44(5):281-9. DOI: 10.1111/jmp.12185
10. Inoue R, Sano T, Suda W, et al. Fecal microbiota transplantation for the treatment of chronic diarrhea in common marmosets (*Callithrix jacchus*). Exp Anim. 2016;65(3):287-96. https://doi.org/10.1538/expanim.16-0003
11. Ross CN, Reveles KR. Feasibility of fecal microbiota transplantation via oral gavage to safely alter gut microbiome composition in marmosets. Am J Primatol. 2020;82:e23196. DOI: 10.1002/ajp.23196
12. Drobot HYu, Shebeko SK, Ermakov AM. Using fecal microbiota transplantation for animal health (review). Veterinary Science Today. 2024;13(4):314-321. DOI: 10.29326/2304-196X-2024-13-4-314-321 (In Russian).
13. Melikhova AV, Ilina EN, Mokhirev Dyu, Benediktova YaD, Pavlenko AV, Polyakova VI, et al. Biotechnological and microbiological aspects of development of capsule form for fecal microbiota transplantation. World Journal of Advanced Research and Reviews. 2024;24(02):682-689. DOI: 10.30574/wjarr.2024.24.2
14. Halaweish HF, Boatman S, Staley C. Encapsulated Fecal Microbiota Transplantation: Development, Efficacy, and Clinical Application. Front Cell Infect Microbiol. 2022 Mar 17;12:826114. DOI: 10.3389/fcimb.2022.826114
15. GOST 34566-2019 "Complete feed for laboratory animals". (In Russian).
16. SanPiN 3.3686-21 "Sanitary and epidemiological requirements for the prevention of infectious diseases". (In Russian).
17. MU 1.3.2569-09 Organization of work of laboratories using nucleic acid amplification methods when working with material containing microorganisms of pathogenicity groups I–IV. (In Russian).
18. Lee MA, Questa M, Wanakumjorn P, Kol A, McLaughlin B, Weimer BC, et al. Safety profile and effects on the peripheral immune response of fecal microbiota transplantation in clinically healthy dogs. J Vet Intern Med. 2024 May-Jun;38(3):1425-1436. DOI: 10.1111/jvim.17061
19. Gaonkar P. Safety and potential risks with fecal microbiota transplantation. Contemporary topics in patient safety. Vol 1. 2022. DOI: 10.5772/intechopen.95907
20. Zhang T, Cui B, Li P, He Z, Long C, Wei L, et al. Short-Term Surveillance of Cytokines and C-Reactive Protein Cannot Predict Efficacy of Fecal Microbiota Transplantation for Ulcerative Colitis. PLoS One. 2016 Jun 27;11(6):e0158227. DOI: 10.1371/journal.pone.0158227
21. Ruszkowski J, Kachlik Z, Walaszek M, Storman D, Podkowa K, Garbarczuk P, et al. Fecal microbiota transplantation from patients into animals to establish human microbiota-associated animal models: a scoping review. J Transl Med. 2025 Jun 17;23(1):662. DOI: 10.1186/s12967-025-06645-6
22. Kragsnaes MS, Kjeldsen J, Horn HC, Munk HL, Pedersen JK, Just SA, et al. Response to: 'Correspondence on 'Safety and efficacy of faecal microbiota transplantation for active peripheral psoriatic arthritis: an exploratory randomised placebo-controlled trial'' by McGonagle et al. Ann Rheum Dis. 2023 Jul;82(7):e165. DOI: 10.1136/annrheumdis-2021-220910

Информация о соавторах:

Демерчян Алвард Варткесовна, научный сотрудник лаборатории микробиологии и вирусологии, Курчатовский комплекс медицинской приматологии ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт»

Мухаметзянова Евгения Ильдаровна, научный сотрудник лаборатории приматологии, Курчатовский комплекс медицинской приматологии ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт»

Котова Мария Анатольевна, лаборант-исследователь лаборатории доклинических исследований Экспериментально-биологической клиники Курчатовского комплекса НБИКС-природоподобных технологий, ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт»

Аршба Илона Мурмановна, кандидат биологических наук, начальник лаборатории микробиологии и вирусологии, Курчатовский комплекс медицинской приматологии ФГБУ НИЦ «Курчатовский институт»

Information about co-authors:

Alvard V. Demerchyan, Researcher, Laboratory of Microbiology and Virology, Kurchatov Complex of Medical Primatology of NRC «Kurchatov Institute»

Evgenia I. Mukhametzyanova, Researcher, Laboratory of Primatology, Kurchatov Complex of Medical Primatology of NRC «Kurchatov Institute»

Maria A. Kotova, Research Assistant, Preclinical Research Laboratories of the Experimental Biological Clinic of the Kurchatov Complex of NBICS-nature-like technologies of NRC «Kurchatov Institute»

Ilona M. Arshba, PhD in Biological Sciences, Head of the Laboratory of Microbiology and Virology, Kurchatov Complex of Medical Primatology of NRC «Kurchatov Institute»

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-39-44

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 39–44
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 39–44

Состав лактофлоры генитального тракта женщин при уреаплазменной и цитомегаловирусной инфекциях

Г.З.Халдарбекова

Ташкентский государственный медицинский университет, Ташкент, Республика Узбекистан

В статье приводятся результаты идентификации состава лактофлоры генитального тракта женщин фертильного возраста, у которых были обнаружены уреаплазменная и цитомегаловирусная инфекции.
Целью данной работы является идентификация видов лактобацилл влагалища с применением стандартного биохимического и масс-спектрометрического методов.
Пациенты и методы. В проекте участвовали 90 пациенток, из них у 57 был диагностирован уреаплазмоз, у 33 – цитомегаловирусная инфекция. Проводили идентификацию 52 изолятов рода *Lactobacillus*, применяя стандартный биохимический и масс-спектрометрический метод (MALDI-TOF EXS2600), что позволило получить достоверные результаты.
Результаты. Лидирующее положение в лактофлоре при уреаплазменной инфекции занимали 3 вида: *L. fermentum* (36,6%), *L. salivarius* (27,6%) и *L. gasseri* (16,6%). Частота высеваемости остальных 3 видов (*L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. iners*) составила <19,8%. У пациенток с цитомегаловирусной инфекцией в низких титрах выделено 4 вида лактобактерий: *L. fermentum* (33,3%), *L. salivarius* (40%), *L. crispatus* (13,3%), *L. jensenii* (13,3%).
Обсуждение. Можно предположить, что уреаплазменная и цитомегаловирусная инфекции реализуют различные механизмы нарушения вагинальной микроэкологии, что отражается в различиях видового состава и функционального потенциала лактобактерий.
Ключевые слова: генитальный тракт, Ureaplasma spp., цитомегаловирус, лактобациллы, эубиоз, дисбиоз, масс-спектрометрия, метод полимеразной цепной реакции

Для цитирования: Халдарбекова Г.З. Состав лактофлоры генитального тракта женщин при уреаплазменной и цитомегаловирусной инфекций. Бактериология. 2026; 11(2): 39–44. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-39-44

Lactoflora composition of the genital tract of women with ureaplasma and cytomegalovirus infections

G.Z.Khaldarbekova

Tashkent State Medical University, Tashkent, Uzbekistan

This article presents the results of identification of the composition of lactoflora of the genital tract of women of childbearing age, in whom ureaplasma and cytomegalovirus infections were detected.
The aim of this study was to identify vaginal lactobacilli species using standard biochemical and mass spectrometric methods.
Patients and methods. A total of 90 women participated in the project, 57 of whom were diagnosed with ureaplasmosis and 33 with CMV infection. Fifty-two isolates of the genus *Lactobacillus* were identified using standard biochemical and mass spectrometric methods (MALDI-TOF EXS2600), which enabled reliable results.
Results. Three species dominated the lactoflora in ureaplasma infections: *L. iners* (36,6%), *L. vaginalis* (27,6%) and *L. salivarius* (16,6%). The frequency of isolation of the remaining 4 species – *L. fermentum*, *L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. gasseri*, was less than 19,8%. Regarding CMV-infections, 4 species of lactobacilli were isolated in low titers (*L. fermentum* – 33,3%, *L. salivarius* – 40%, *L. crispatus* – 13,3%, *L. jensenii* – 13,3%).
Discussion. It can be hypothesized that ureaplasma and cytomegalovirus infections implement different mechanisms of vaginal microecological disruption, which is reflected in differences in the species composition and functional potential of lactobacilli.
Key words: genital tract, Ureaplasma spp., cytomegalovirus, lactobacilli, eubiosis, dysbiosis, identification, mass spectrometry, PCR-method

For citation: Khaldarbekova G.Z. Lactoflora composition of the genital tract of women with ureaplasma and cytomegalovirus infections. Bacteriology. 2026; 11(2): 39–44. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-39-44

Для корреспонденции:

Халдарбекова Гулжахон Зафар кизи, докторант кафедры микробиологии Ташкентского государственного медицинского университета

Адрес: 100109, Узбекистан, Ташкент, ул. Фаробия, 2

Статья поступила 02.03.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Gulzhakhon Z. Khaldarbekova, Doctoral Student of the Department of Microbiology of Tashkent State Medical University

Address: 2 Farobiy str., Tashkent, 100109, Uzbekistan

The article was received 02.03.2026, accepted for publication 30.06.2026

Инфекции урогенитального тракта, ассоциированные с Ureaplasma spp. и цитомегаловирусом (ЦМВ), продолжают оставаться одной из наиболее сложных и дискутабельных проблем современной гинекологии и репродуктивной медицины. Высокая распространенность данных возбудителей среди женщин репродуктивного возраста, частое бессимптомное течение вызванных ими инфекций, а также способность к длительной персистенции в генитальном тракте обуславливают риск хронического воспаления, репродуктивных нарушений и неблагоприятных перинатальных исходов [1–4].

Ureaplasma spp. занимают особое положение среди условно-патогенных микроорганизмов урогенитального тракта [5]. С одной стороны, они могут присутствовать как компоненты микробиоты, с другой – при определенных условиях ассоциируются с воспалительными заболеваниями органов малого таза, привычным невынашиванием беременности и преждевременными родами [6, 7]. В настоящее время отсутствуют единые критерии, позволяющие прогнозировать клиническую значимость уреаплазменной инфекции, что указывает на необходимость поиска модифицирующих факторов, определяющих ее патогенность [5, 8].

ЦМВ-инфекция, в свою очередь, характеризуется выраженной способностью к иммунной модуляции и латентной персистенции [9]. Реактивация ЦМВ в генитальном тракте женщин нередко протекает на фоне локальных нарушений иммунитета и микробиоценоза, однако роль вагинальной микроэкологии в поддержании или ограничении персистенции ЦМВ-инфекции остается недостаточно изученной [10, 11].

В последние годы установлено, что состояние вагинальной микроэкологии является ключевым фактором колонизационной резистентности генитального тракта. Доминирование лактобактерий обеспечивает поддержание кислой среды, конкуренцию за рецепторы адгезии и продукцию антимикробных веществ [12]. Вместе с тем показано, что различные виды *Lactobacillus* spp. обладают неодинаковым защитным потенциалом. Преобладание *L. crispatus* ассоциируется со стабильным эубиозом, тогда как доминирование *L. iners* и *L. vaginalis* нередко выявляется при нестабильных и переходных состояниях микробиоценоза, создающих условия для персистенции условно-патогенных и вирусных агентов [13–15].

Современные исследования свидетельствуют о том, что присутствие лактобацилл без учета их видового состава, адгезивных свойств и молекулярно-генетических характеристик не позволяет объективно оценить состояние вагинальной микроэкологии. Это особенно важно при уреаплазменной и цитомегаловирусной инфекциях, для которых характерна зависимость клинического течения от локальных условий микросреды и иммунного ответа [16–18].

Существующие диагностические подходы в клинической практике преимущественно ориентированы на выявление *Ureaplasma* spp. и ЦМВ методами полимеразной цепной реакции [19, 20], без комплексной оценки качественных характеристик лактобациллярного сообщества. В результате отсутствуют надежные критерии прогнозирования персистенции инфекции, риска рецидивов и эффективности профилактических мероприятий. Данная исследовательская стратегия позволяет углубить понимание механизмов взаимодействия между микробиоценозом и внутриутробными инфекциями, а также создать научную основу для разработки персонифицированных методов диагностики и профилактики нарушений вагинальной микроэкологии.

Целью данной работы является комплексное исследование микроэкологии генитального тракта у женщин с уреаплазменной и цитомегаловирусной инфекцией, основанное на анализе видового состава лактобактерий генитального тракта.

Пациенты и методы

Клинико-лабораторное исследование проведено в период с января по декабрь 2015 г. на базе следующих медицинских учреждений города Ташкент, Узбекистан: IVF Tash клиника «Сиз она бўласиз»; Израильский центр репродукции человека и семейного здоровья; Национальный медицинский центр (Миллий тиббиет маркази).

Всего в исследование были включены 90 женщин фертильного возраста. Материалом для исследования служило отделяемое заднего свода влагалища и цервикального канала, которое забирали стерильной ложкой Фолькмана в количестве 0,1 мл.

Из генитального тракта женщин было выделено 52 изолята: 37 от 57 пациенток с уреаплазмозной инфекцией (1-я группа), 15 – от 33 пациенток с ЦМВ-инфекцией (2-я группа).

Для ориентировочной оценки состояния микробиоценоза готовили мазки вагинального отделяемого, окрашивали их по Граму и исследовали методом световой микроскопии (масляная иммерсия, увеличение ×1000) с оценкой количества морфотипов лактобактерий в поле зрения.

Методы выделения и идентификации видов лактобактерий. Чистую культуру лактобацилл выделяли путем растительной исследуемого материала. Для выделения и выращивания культур использовали модифицированные питательные среды MRS (среда J.C.De Man, M.Rogosa и E.Sharpe): полужидкую, содержащую 0,15% агара (МРС-2), и плотную, содержащую 2% агара (МРС-4). Культивировали в течении 24 ч при температуре 37°С в анаэростате с газовыми патронами при повышенном содержании CO_2 и в аэробных условиях [21, 22].

Идентификацию чистых культур проводили по культуральным, морфологическим, тинкториальным и биохимиче-

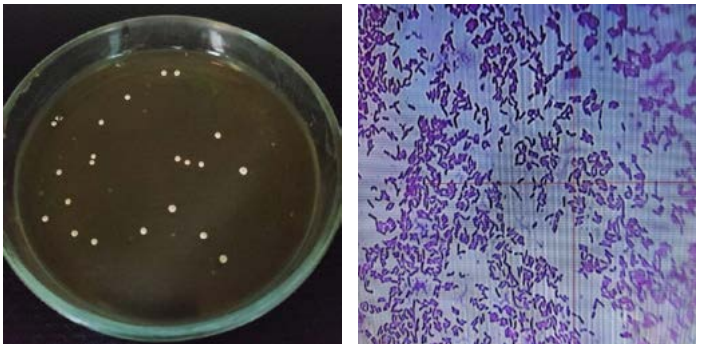


Рис. 1. **Рост лактобацилл на среде МРС-4 (слева) и мазок под микроскопом (справа).**
Fig. 1. ***Growth of lactobacilli on MPC-4 medium (left) and a smear under a microscope (right).***

ским свойствам. К бактериям *Lactobacillus* относили микроаэрофильные, грамположительные, палочковидные, неподвижные, неспорообразующие, не обладающие каталазной активностью микроорганизмы. Изолированные колонии, типичные для лактобацилл, пересевали в полужидкую среду МРС-2. Через 2 суток инкубации из всех пробирок выполняли контрольные мазки, после чего культуры использовали для постановки «пестрого ряда» (рис. 1).

Идентификацию лактобактерий проводили по методу Гисса («пестрый ряд» углеводов), а также по определителю Берджи (The Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology) [23]. Классическая микробиологическая схема идентификации видов основана на изучении метаболизма углеводов и представляет собой «пестрый ряд», состоящий из 14 субстратов [24].

Идентификация лактобактерий. Видовую идентификацию всех выделенных изолятов лактобактерий проводили масс-спектрометрическим методом с использованием системы масс-спектрометрии MALDI-TOF EXS2600 с программным обеспечением Maldi BioTyper (Zybio Inc., Китай).

Результаты исследования

В 1-й группе при микроскопии в 32% случаев в окрашенных по Граму мазках не выявлены морфотипы лактобактерий, а в 78% отмечено умеренное их количество (до 100 микробных клеток в поле зрения). У пациенток 1-й группы количественный уровень лактобактерий соответствовал нормативным значениям или находился на нижней границе нормы (≥7 lg КОЕ/мл). Среди лактобактерий, выделенных при уреаплазмозной инфекции, идентифицированы 6 видов. Лидирующее положение занимали 3 вида: *L. fermentum* (36,6%), *L. salivarius* (27,6%) и *L. gasseri* (16,6%). Частота высеваемости остальных 3 видов (*L. crispatus*, *L. jensenii*, *L. iners*) составила <19,8% (рис. 2). Эти результаты могут свидетельствовать о нестабильном, «переходном» состоянии микробиоты.

Анализ ферментативной активности выделенных изолятов на средах Гисса (таблица) показал, что все исследованные штаммы обладали типичными для своего вида биохимическими свойствами. Полная утилизация глюкозы и фруктозы отмечалась у 100% идентифицированных видов лактобактерий. Изоляты *L. fermentum* демонстрировали наиболее широкий спектр ферментации углеводов, активно или частично расщепляя галактозу, лактозу, мальтозу, маннозу,

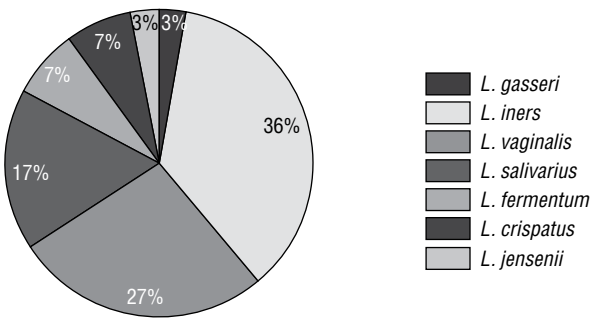


Рис. 2. **Состав лактофлоры генитального тракта при уреаплазмозной инфекции.**
Fig. 2. ***Composition of lactoflora of the genital tract in ureaplasma infection.***

Таблица. **Расщепление углеводов лактобациллами, выделенными из биотопов тела человека**
Table. ***Splitting of carbohydrates by lactobacilli isolated from human body biotopes***

Углеводы / *Carbohydrates*	Виды / *Species*						
	L. crispatus	*L. gasseri*	*L. jensenii*	*L. vaginalis*	*L. fermentum*	*L. salivarius*	*L. iners*
Глюкоза / *Glucose*	+	+	+	+	+	+	+
Арабиноза / *Arabinose*	–	–	–	–	–	–	–
Галактоза / *Galactose*	+	+	+	±	±	+	±
Ксилоза / *Xylose*	–	–	–	–	–	–	–
Лактоза / *Lactose*	±	+	±	–	±	+	–
Мальтоза / *Maltose*	+	+	+	±	+	+	±
Маннит / *Mannitol*	–	±	–	±	+	±	±
Манноза / *Mannose*	+	+	+	±	±	+	±
Рамноза / *Ramnoza*	–	–	–	–	–	–	–
Раффиноза / *Raffinose*	–	–	–	–	–	–	–
Сахароза / *Sucrose*	±	+	±	±	+	+	±
Сорбит / *Sorbitol*	–	±	–	±	+	±	±
Фруктоза / *Fructose*	+	+	+	+	+	+	+
Целлобиоза / *Cellobiose*	±	±	±	–	±	±	–

«+» – активное сбраживание, «±» – ограниченное (штамм-зависимое), «–» – не сбраживает. / *«+» – active fermentation, «±» – limited (strain dependent), «–» – does not ferment.*

сахарозу, а также маннит и сорбит, что указывает на их высокий адаптивный потенциал. В то же время виды *L. vaginalis* и *L. iners* характеризовались более узким метаболическим профилем, в частности, полным отсутствием способности к сбраживанию лактозы и целлобиозы, а также штамм-зависимым (ограниченным) усвоением большинства других тестируемых углеводов. Можно сказать, что уреаплазменная инфекция ассоциирована не с полным исчезновением лактобактерий, а с их качественной трансформацией. Это можно объяснить несколькими экологическими, физиологическими и методическими факторами. В условиях изменения среды (повышение pH влагалища, гормональные изменения, воспалительные процессы, наличие условно-патогенных анаэробов) чаще начинают доминировать *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. gasseri*, так как они лучше адаптируются к нестабильной среде. Это можно объяснить тем, что *L. fermentum* имеет широкий спектр использования углеводов, что определяет высокую метаболитическую адаптацию. Поэтому он может занимать эпителиальные рецепторы раньше. По исследованиям ученых известно, что *L. salivarius* хорошо адаптируется к различным биотопам.

Наличие и частота выделения *L. iners* связаны с переходным состоянием микрофлоры влагалища, что определяет его адаптацию к вагинальному отсеку при наличии патогенов или дисбиотических состояний. Идентификация этого вида проводилось только с помощью системы масс-спектрометрии, так как он является труднокультивируемым на агаре МРС-4, требует дополнительных ростовых факторов и очень изменчив по морфологическим и тинкториальным свойствам.

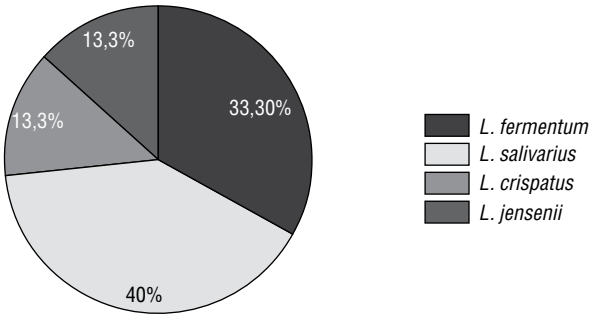


Рис. 3. **Состав лактофлоры генитального тракта при ЦМВ-инфекции.**
Fig. 3. ***Composition of lactoflora of the genital tract in CMV infection.***

Во 2-й группе при микроскопии в 66,9% случаев в окрашенных по Граму мазках не выявлены морфотипы лактобактерий, а в 23,1% отмечено умеренное их количество (до 100 микробных клеток в поле зрения). У пациенток 2-й группы (с ЦМВ-инфекцией) рост лактобактерий был обнаружен лишь в 45,4% случаев, причем их титры во всех случаях оставались низкими – ≤5 lg KOE/мл. В низких титрах выделено 4 вида лактобактерий: *L. fermentum*, *L. salivarius*, *L. crispatus*, *L. jensenii* (рис. 3).

В данной ситуации можно увидеть не угнетение, а снижение частоты доминирующих видов лактобацилл – *L. crispatus* и *L. jensenii*, – заселяющих влагалища здоровых женщин. Это может быть связано со снижением их биологических свойств, а именно адгезией к влагалищным эпителиальным клеткам. Несмотря на это, интересным является тот факт, что при изменении локального иммунного статуса влагалища они остаются и частично заселяют эту нишу.

Изменение структуры лактофлоры при ЦМВ-инфекции может быть обусловлено тем, что вирус модулирует локальный иммунный ответ, впоследствии чего изменяется экспрессия рецепторов эпителия как основного места колонизации лактобацилл. Значит, при ЦМВ-инфекции ключевым является функциональный дефект лактобацилл, а не только смена видов.

Обсуждение

Уреаплазменную и ЦМВ-инфекции следует рассматривать как факторы, вызывающие качественно различные типы нарушений микроэкологии генитального тракта: уреаплазма – преимущественно структурный дисбиоз с риском развития бактериального вагиноза, а ЦМВ – функциональный дисбиоз, характеризующийся сохранением лактобацилл при снижении их защитного потенциала.

Особенности ферментативного профиля исследованных лактобацилл позволяют по-новому оценить перестройку вагинального микробиоценоза при уреаплазменной и ЦМВ-инфекциях. Тот факт, что при уреаплазмозе лидирующее положение начинают занимать *L. fermentum* и *L. salivarius*, может быть обусловлен их способностью утилизировать широкий спектр углеводных субстратов в условиях меняющейся микросреды и развивающегося локального воспаления.

Напротив, выявляемое при ЦМВ-инфекции снижение доминирования таких видов, как *L. crispatus*, может приводить к дефициту штаммов с активным и стабильным сбраживанием лактозы и сахарозы. Обнаруженные изменения видового состава лактофлоры могут косвенно отражать сдвиги в доступности питательных субстратов в биотопе. Тем не менее способность микроорганизмов ассимилировать углеводы без выраженного закисления среды указывает на то, что результаты на «пестром ряду» оценивают лишь ферментативный (сбраживающий) потенциал, в то время как комплексные механизмы углеводного метаболизма сообщества в условиях *in vivo* требуют дальнейшего изучения.

Актуальным является исследование факторов, влияющих на баланс между *L. iners* и полезными видами лактобацилл, а также роль этого вида при восстановлении вагинальной микрофлоры во время и после дисбиотических состояний.

При ЦМВ-инфекции ключевым является функциональный дефект лактобацилл, а не только смена видов. При данной инфекции отмечается функциональное угнетение углеводного метаболизма лактобациллярного сообщества независимо от его количественного состава.

Можно предположить, что уреаплазменная и ЦМВ-инфекции реализуют различные механизмы нарушения вагинальной микроэкологии, что отражается в различиях видового состава и функционального потенциала лактобактерий.

Частота выделения видов лактобактерий, которые в настоящее время используются в качестве пробиотических препаратов (*L. rhamnosus*, *L. reuteri*), была равна к нулю.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования.

Funding

The work was carried out within the framework of budgetary funding.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Данное исследование было проведено независимо одним автором.

Author contributions

This study was conducted independently by one author.

Благодарности

Выражаю благодарность директору IVF Tash клиника «Сиз она бўласиз» и учредителю «Израильского центра репродукции человека и семейного здоровья» за помощь в отборе исследуемых после тщательного осмотра и консуль-

тации гинекологов, а также направление с клинической точки зрения.

Acknowledgments

I express my gratitude to the Director of IVF Tash Clinic «Siz ona bo'lasiz»and to the Founder of the «Israeli Center for Human Reproduction and Family Health» for their assistance in the selection of study participants following thorough examinations and gynecological consultations, as well as for their clinical guidance.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Каттаходжаева МХ. Неспецифические воспалительные заболевания женских половых органов. Автореф. дисс. … докт. мед. наук. Ташкент, 1995;17-25.
2. Мирсаидова МА. Особенности патогенеза, клиники и терапии бактериального вагиноза в ассоциации с урогенитальными инфекциями у женщин репродуктивного возраста. Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. Ташкент, 2009.
3. Ходжаева ША. Состояние кишечника, генитального тракта и местной иммунной системы при некоторых TORCH-инфекциях и пути их коррекции. Автореф. дисс. … канд. мед. наук. Ташкент, 2008.
4. Brotman RM. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. J Clin Invest. 2011 Dec;121(12):4610-7. DOI: 10.1172/JCI57172
5. Lis R, Rowhani-Rahbar A, Manhart LE. *Mycoplasma* genitalium infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2015 Aug 1;61(3):418-26. DOI: 10.1093/cid/civ312
6. Белова АВ, Асцатурова ОР, Александров ЛС, Никонов АП, Иванова ТА, Гущин АЕ. Генитальные микоплазмы (*Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*) в развитии осложнений беременности, родов и послеродового периода. Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф.Снегирёва. 2014;1(2):26-31. DOI: 10.17816/aog35260
7. Марянян АЮ, Протопопова НВ, Дружинина ЕБ. Течение беременности у женщин с уреамикоплазменной инфекцией в зависимости от исхода лечения. Сибирский медицинский журнал. 2011;6:138-144.
8. Методические рекомендации по выделению, культивированию и идентификации микоплазм, ахолеплазм и уреаплазм. М.: ВАСХНИЛ-ВИЭВ, 1982.
9. Ташханова ДЯ, Курбанова СЮ, Мухамедов ШХ, Буранова СИ, Тоирова СФ. Биологические свойства лактобактерий генитального тракта женщин фертильного возраста с ЦМВ. Вестник Ташкентской медицинской академии. 2016;1:125-128.
10. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. Rev Med Virol. 2010 Jul;20(4):202-13. DOI: 10.1002/rmv.655
11. Griffiths P, Reeves M. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. Nat Rev Microbiol. 2021 Dec;19(12):759-773. DOI: 10.1038/s41579-021-00582-z
12. Мухамедов ИМ, Махкамова ДЭ, Мухамедов БИ. Микроэкология влагалища, ее нарушения и пути их коррекции. Учебное пособие. Ташкент, 2004.
13. Petrova MI, Reid G, Vaneechoutte M, Lebeer S. *Lactobacillus iners*: Friend or Foe? Trends Microbiol. 2017 Mar;25(3):182-191. DOI: 10.1016/j.tim.2016.11.007
14. Мелкумян АР, Припутневич ТВ, Анкирская АС, Трофимов ДЮ, Муравьева ВВ, Муллабаева СМ и др. Видовой состав лактобактерий при различном состоянии микробиоты влагалища у беременных. Клиническая микробиология и антимикробная терапия. 2013;51(1):72-9.
15. Borges S, Silva J, Teixeira P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. Arch Gynecol Obstet. 2014 Mar;289(3):479-89. DOI: 10.1007/s00404-013-3064-9
16. Анкирская АС, Муравьёва ВВ. Интегральная оценка состояния микробиоты влагалища. Диагностика оппортунистических вагинитов. (Медицинская технология). М., 2011.
17. Дрождина МБ. Влагалищная микробиота, иммунный ответ и некоторые инфекции, передаваемые половым путем: механизмы взаимодействия и регуляции влагалищной экосистемы. Клиническая дерматология и венерология. 2020;19(6):926-933. DOI: 10.17116/klinderma202019061926
18. Рахматуллаева ММ, Наврузова НО. Лактобактерии влагалища: их виды, свойства и роль в вагинальном биотопе. Вестник врача. 2019;2:154-159. Режим доступа: https://inlibrary.uz/index.php/doctors_herald/article/view/2466 (просмотр 20.08.2025)
19. Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S, Ichihara K, Maeda T, Kunishima Y, et al. Detection of *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, and *Ureaplasma parvum* DNAs in urine from asymptomatic healthy young Japanese men. J Infect Chemother. 2006 Oct;12(5):269-71. DOI: 10.1007/s10156-006-0462-y
20. Waites KB, Xiao L, Paralanov V, Viscardi RM, Glass JI. Molecular methods for the detection of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* infections in humans: a paper from the 2011 William Beaumont Hospital Symposium on molecular pathology. J Mol Diagn. 2012 Sep;14(5):437-50. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2012.06.001
21. Мелкумян АР, Припутневич ТВ. Влагалищные лактобактерии – современные подходы к видовой идентификации и изучению их роли в микробном сообществе. Акушерство и гинекология. 2013;7:18-23.
22. Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. J Infect Dis. 1999 Dec;180(6):1950-6. DOI: 10.1086/315109
23. William B. Whitman. Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology. New York. Springer. 2009;3:464-511.
24. Pendharkar S, Magopane T, Larsson PG, de Bruyn G, Gray GE, Hammarström L, et al. Identification and characterisation of vaginal lactobacilli from South African women. BMC Infect Dis. 2013 Jan 26;13:43. DOI: 10.1186/1471-2334-13-43

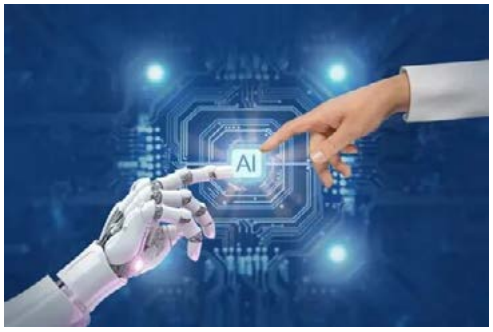
References

1. Kattakhodzhaeva MKh. Non-specific inflammatory diseases of the female genital organs. Avtoref. diss. … dokt. med. nauk. Tashkent, 1995;17-25. (In Russian).
2. Mirsaidova MA. Features of the pathogenesis, clinical presentation, and therapy of bacterial vaginosis in association with urogenital infections in women of reproductive age. Avtoref. diss. ... kand. med. nauk. Tashkent, 2009. (In Russian).
3. Khodjaeva ShA. The state of the intestine, genital tract and local immune system in some TORCH infections and ways of their correction. Avtoref. diss. … kand. med. nauk. Tashkent, 2008. (In Russian).
4. Brotman RM. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. J Clin Invest. 2011 Dec;121(12):4610-7. DOI: 10.1172/JCI57172
5. Lis R, Rowhani-Rahbar A, Manhart LE. *Mycoplasma* genitalium infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2015 Aug 1;61(3):418-26. DOI: 10.1093/cid/civ312
6. Belova AV, Astsaturova OR, Aleksandrov LS, Nikonov AP, Ivanova TA, Gushchin AE. Contribution of genital mycoplasmas (*Ureaplasma parvum*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*) to the development of pregnancy, labor, and postpartum period complications. V.F.Snegirev Archives of Obstetrics and Gynecology. 2014;1(2):26-31. DOI: 10.17816/aog35260 (In Russian).

7. Maryanyan AYu, Protopopova NV, Druzhinina EB. The course of pregnancy in women with ureaplasma infection depending on the outcome of treatment. Siberian Medical Journal. 2011;6:138-144. (In Russian).
8. Guidelines for the isolation, cultivation and identification of mycoplasmas, acholeplasmas and ureaplasmas. M.: VASKhNIL-VIEV, 1982. (In Russian).
9. Tashkhanova DYa, Kurbanova SYu, Mukhamedov ShH, Buranova SI, Toirova SF. Biological properties of lactobacteria of the genitals of women of childbearing age with CMV. Messenger of the Tashkent Medical Academy. 2016;1:125-128. (In Russian).
10. Cannon MJ, Schmid DS, Hyde TB. Review of cytomegalovirus seroprevalence and demographic characteristics associated with infection. Rev Med Virol. 2010 Jul;20(4):202-13. DOI: 10.1002/rmv.655
11. Griffiths P, Reeves M. Pathogenesis of human cytomegalovirus in the immunocompromised host. Nat Rev Microbiol. 2021 Dec;19(12):759-773. DOI: 10.1038/s41579-021-00582-z
12. Mukhamedov IM, Makhakamova DE, Mukhamedov BI. Microecology of the Vagina, Its Disorders, and Ways of Their Correction. Textbook. Tashkent, 2004. (In Russian).
13. Petrova MI, Reid G, Vaneechoutte M, Lebeer S. *Lactobacillus iners*: Friend or Foe? Trends Microbiol. 2017 Mar;25(3):182-191. DOI: 10.1016/j.tim.2016.11.007
14. Melkumyan AR, Priputnevich TV, Yankirskaya AS, Trofimov DYu, Muravyeva VV, Mullabaeva SM, et al. Species composition of lactobacilli in different states of vaginal microbiota in pregnant women. Clinical Microbiology and Antimicrobial Therapy. 2013;51(1):72-9. (In Russian).
15. Borges S, Silva J, Teixeira P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. Arch Gynecol Obstet. 2014 Mar;289(3):479-89. DOI: 10.1007/s00404-013-3064-9
16. Ankirskaya AS, Muravyova VV. Integral assessment of the vaginal microbiota status. Diagnosis of opportunistic vaginitis. (Medical technology). M., 2011. (In Russian).
17. Drozhdina MB. Vaginal microbiota, immune response and some sexually transmitted infections: mechanisms of interaction and regulation of the vaginal ecosystem. Russian Journal of Clinical Dermatology and Venereology. 2020;19(6):926-933. DOI: 10.17116/klinderma202019061926 (In Russian).
18. Rakhmatullaeva MM, Navruzova NO. Lactobacilli of the vagina: their types, properties and role in vaginal biotope. Doktor Axborotnomasi. 2019;2:154-159. Available at: https://inlibrary.uz/index.php/doctors_herald/article/view/2466 (accessed 20.08.2025) (In Russian).
19. Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S, Ichihara K, Maeda T, Kunishima Y, et al. Detection of *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, and *Ureaplasma parvum* DNAs in urine from asymptomatic healthy young Japanese men. J Infect Chemother. 2006 Oct;12(5):269-71. DOI: 10.1007/s10156-006-0462-y
20. Waites KB, Xiao L, Paralanov V, Viscardi RM, Glass JI. Molecular methods for the detection of *Mycoplasma* and *Ureaplasma* infections in humans: a paper from the 2011 William Beaumont Hospital Symposium on molecular pathology. J Mol Diagn. 2012 Sep;14(5):437-50. DOI: 10.1016/j.jmoldx.2012.06.001
21. Melkumyan AR, Priputnevich TV. Vaginal lactobacilli – modern approaches to species identification and the study of their role in the microbial community. Obstetrics and Gynecology. 2013;7:18-23. (In Russian).
22. Antonio MA, Hawes SE, Hillier SL. The identification of vaginal *Lactobacillus* species and the demographic and microbiologic characteristics of women colonized by these species. J Infect Dis. 1999 Dec;180(6):1950-6. DOI: 10.1086/315109
23. William B. Whitman. Bergey`s Manual of Systematic Bacteriology. New York. Springer. 2009;3:464-511.
24. Pendharkar S, Magopane T, Larsson PG, de Bruyn G, Gray GE, Hammarström L, et al. Identification and characterisation of vaginal lactobacilli from South African women. BMC Infect Dis. 2013 Jan 26;13:43. DOI: 10.1186/1471-2334-13-43

НОВОСТИ НАУКИ

Межконтинентальное исследование внедрения искусственного интеллекта среди стажеров-эпидемиологов в Канаде, США и Европе, 2024 год



Изучено использование искусственного интеллекта (ИИ) среди участников программ подготовки полевых эпидемиологов (FETP) в Канаде, Европе и США.

Были собраны количественные и качественные данные об используемых участниками (220 респондентов) платформах ИИ, приложениях ИИ, уровне комфорта при применении ИИ, частоте использования, влиянии на работу, барьерах, этических проблемах, наличии политики/руководств по ИИ и обучении ИИ. В опросе приняли участие 105 (48%) респондентов: 13, 56 и 36 в канадской, американской и европейской программах FETP соответственно. Доля респондентов, сообщивших об использовании ИИ в работе, составила 66% (69/105) в целом и была самой высокой среди респондентов европейской программы (32/36). Наиболее распространенной платформой был ChatGPT (60/69; 87%), а наиболее распространенным применением – аналитическая помощь в кодировании (63/69; 91%). Среди пользователей ИИ большинство чувствовали себя в некоторой степени комфортно (34/69; 49%) или комфортно (24/69; 35%) при работе с ИИ и сообщали об использовании ИИ еженедельно (29/69; 42%) или ежедневно (21/69; 30%). В целом, сообщалось о положительном влиянии ИИ. К проблемам относились технические трудности, проблемы с точностью, внесение предвзятости, неопределенность в отношении допустимых способов использования и проблемы конфиденциальности данных. Среди респондентов 47% (49/105) подтвердили наличие политики/руководящих принципов в области ИИ в своих учреждениях, а 20% (21/105) прошли обучение по ИИ. Для дальнейшего внедрения использования ИИ среди своих стипендиатов программы FETP должны отслеживать меняющуюся роль ИИ, предоставлять рекомендации и соответствующим образом адаптировать учебные программы.

Smith CR, Girin N, Laberge K, Manthey S, Marcynuk P, Pevzner E, et al. Artificial intelligence (AI) in action: a cross-continental survey of AI adoption among field epidemiology fellows in Canada, the United States, and Europe, 2024. Euro Surveill. 2026 Jul;31(26):2500677. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2026.31.26.2500677

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-45-49

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 45–49
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 45–49

Микробиологическая диагностика микоплазменной и хламидийной инфекции при острых респираторных заболеваниях и пневмонии у детей

Л.Г.Боронина[1], Е.В.Саматова[2], Н.А.Кочнева[2]

[1]ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, Екатеринбург, Российская Федерация;
[2]ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», Екатеринбург, Российская Федерация

Целью исследования было определить распространенность и этиологическую роль *Mycoplasmoides pneumoniae* и *Chlamydophila pneumoniae* в развитии респираторной инфекции у детей Свердловской области на современном этапе. В работе проанализированы данные иммунохимических и молекулярно-биологических методов диагностики *M. pneumoniae*- и *C. pneumoniae*-инфекции в 2000–2024 гг. Установлено, что в 2024 г. была вспышка микоплазменной пневмонии у детей в Свердловской области, как и в других регионах России. Сезонных изменений и отличий за исследуемые годы при выявлении этиологии острых респираторных заболеваний, вызванных *C. pneumoniae*, не было обнаружено.
Ключевые слова: дети, инфекция, Mycoplasmoides pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae

Для цитирования: Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Кочнева Н.А. Микробиологическая диагностика микоплазменной и хламидийной инфекции при острых респираторных заболеваниях и пневмонии у детей. Бактериология. 2026; 11(2): 45–49. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-45-49

Microbiological diagnostics of mycoplasma and chlamydia infections in acute respiratory diseases and pneumonia in children

L.G.Boronina[1], E.V.Samatova[2], N.A.Kochneva[2]

[1]Urals State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation;
[2]Regional Children's Clinical Hospital, Ekaterinburg, Russian Federation

The aim of the study was to determine the prevalence and etiological role of *Mycoplasmoides pneumoniae* and *Chlamydophila pneumoniae* in the development of respiratory infection in children of the Sverdlovsk region at the current stage. The work analyzes the data of immunochemical and molecular biological methods of diagnostics of *M. pneumoniae* and *C. pneumoniae* infection in 2000–2024. Based on which it is established that in 2024 there was an outbreak of mycoplasma pneumonia in children of the Sverdlovsk region, as well as in other regions of the Russian Federation. No seasonal changes or differences were detected in the etiology of acute respiratory diseases caused by C. pneumoniae over the study years.
Key words: children, infection, Mycoplasmoides pneumoniae, Chlamydophila pneumoniae

For citation: Boronina L.G., Samatova E.V., Kochneva N.A. Microbiological diagnostics of mycoplasma and chlamydia infections in acute respiratory diseases and pneumonia in children. Bacteriology. 2026; 11(2): 45–49. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-45-49

В большинстве случаев острых инфекций верхних и нижних дыхательных путей возбудителями являются вирусы (включая риновирусы, вирусы парагриппа, гриппа, коронавирусы, аденовирусы, респираторно-синцитиальный вирус и т.д.).

Среди бактерий распространенными патогенами являются *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*. Однако необходимо также помнить об атипичных микроорганизмах: микоплазме, хламидии и легионелле [1–4]. В соответствие с новой классификацией бактерий,

Для корреспонденции:

Боронина Любовь Григорьевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры медицинской микробиологии и клинической лабораторной диагностики ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России

Адрес: 620028, Екатеринбург, ул. Репина, 3
Телефон: (343) 231-9264
ORCID: 0000-0003-0152-962X

Статья поступила 25.12.2025, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Lyubov G. Boronina, MD, PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Medical Microbiology and Clinical Laboratory Diagnostics, Urals State Medical University

Address: 3 Repin str., 620028, Ekaterinburg, Russian Federation
Phone: (343) 231-9264
ORCID: 0000-0003-0152-962X

The article was received 25.12.2025, accepted for publication 30.06.2026

основанной на данных полногеномного секвенирования, *Mycoplasma pneumoniae* сейчас относится к роду *Mycoplasmoides*, семейству *Mycoplasmoidaceae*, порядку *Mycoplasmoidales*, классу *Mollicutes* [2]. *M. pneumoniae* передается воздушно-капельным путем при непосредственном контакте с инфицированными лицами. Подъем заболеваемости обычно отмечается в осенне-зимние месяцы, но отдельные случаи инфекции могут регистрироваться в течение всего года. Инкубационный период составляет 2–3 нед. *M. pneumoniae* вызывает инфекции особенно часто у детей старше 5 лет и у взрослых молодого и среднего возраста. Заболеваемость микоплазменной инфекцией может быть намного выше регистрируемой, поскольку инфекция часто протекает субклинически или вызывает легкие респираторные симптомы, не требующие госпитализации. Внебольничная пневмония развивается у 3–18% инфицированных. *M. pneumoniae* ассоциируется и с другими респираторными заболеваниями, такими как фарингит, трахеит, бронхит, трахеобронхит, абсцесс легких и эмпиема плевры, организующаяся пневмония, бронхоэктазы и др. Кроме того, сообщается о связи инфекции *M. pneumoniae* с обострением бронхиальной астмы [2, 3].

Некоторые авторы утверждают, что, в отличие от микоплазменной этиологии, инфекция, вызванная *Chlamydophila pneumoniae*, наиболее часто встречается среди взрослых и особенно у лиц среднего и пожилого возраста [1].

В то же время есть сообщения, что октябрь–декабрь 2023 г. ознаменовался вспышками внебольничных пневмоний, вызванных *M. pneumoniae*, в Китае и разных странах Европы, преимущественно у детей. Подъем заболеваемости микоплазменной инфекцией также отмечался в декабре 2023 г. в Российской Федерации [3].

Представляет собой интерес оценка роли *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* в развитии респираторной инфекции у детей Свердловской области в период вспышки микоплазменной инфекции в России и других странах.

Цель исследования – определить распространенность и этиологическую роль *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* в развитии респираторной инфекции у детей Свердловской области на современном этапе.

Материалы и методы

Проведен ретроспективный анализ результатов серологического (n = 1085) и молекулярно-генетического (n = 268) исследования на *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* детей в возрасте от 1 года до 17 лет – пациентов поликлиники и многопрофильного детского стационара Областной детской клинической больницы г. Екатеринбурга за 2023–2024 гг.

Из поликлиники материал поступал от пациентов с диагнозами: риносинусит, рецидивирующие ОРВИ, а от детей из стационара – пневмония, бронхит.

Для проведения твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) использовались наборы производства «Вектор-Бест» (Россия), предназначенные для выявления IgM или IgG к соответствующему возбудителю в сыворотке крови человека: «*Mycoplasma pneumoniae* – IgM – ИФА-БЕСТ»; «*Mycoplasma pneumoniae* – IgG – ИФА-БЕСТ»; «*Chlamydophila pneumoniae* – IgM – ИФА-БЕСТ»; «*Chlamydophila pneumoniae* – IgG – ИФА-БЕСТ».

Для проведения молекулярно-генетических исследований использовался набор реагентов «АмплиСенс *Mycoplasma pneumoniae* / *Chlamydophila pneumoniae*-FL» (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия), предназначенный для выявления ДНК *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* в биологическом материале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией.

Все исследования проводились строго в соответствии с инструкцией от производителя. Аналитическая обработка данных проведена с использованием программы Microsoft Excel 2010 и лабораторной информационной системы «Ариадна» (версия 3 от 03.2017 по ТУ 32.50.5-00113886614-2017. Регистрационное удостоверение № РЗН 2018/6977 от 10.07.2018), а также Statistica 6.0.

Результаты исследования и их обсуждение

Образцы крови исследовались методом ИФА для обнаружения антител классов IgM и IgG к *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* у 508 пациентов в 2023 г. (n = 225 из поликлиники, n = 283 из стационара), а в 2024 г. – у 577 детей (n = 297 из поликлиники, n = 280 из стационара).

Для уточнения этиологии заболевания (пневмония, бронхит) методом ПЦР исследовали мокроту (n = 46 в 2023 г., n = 162 в 2024 г.), бронхоальвеолярный лаваж (n = 17 в 2023 г., n = 43 в 2024 г.). Данное исследование проводилось только для пациентов стационара.

В 2023 г. всего обследован 571 ребенок, в 2024 г. – 744, при этом 38 детей обследовали как методом ИФА, так и ПЦР.

Наиболее специфичным и чувствительным методом лабораторной диагностики микоплазменной и хламидийной инфекции является микробиологическое исследование. Однако выделить культуры M. pneumoniae не удалось. При наличии богатой питательной среды рост культуры происходит крайне медленно, в среднем 7–14 суток. Чувствительность культурального исследования, даже при четко выполненных требованиях, не превышает 60%. Поэтому вследствие трудности диагностики микоплазменной и хламидийной инфекции широкое распространение получили серологические методы диагностики, такие как ИФА, направленные на обнаружение специфических антител различных классов (IgM, IgA, IgG) к возбудителю. Первичный иммунный ответ характеризуется синтезом антител класса IgM через 1–3 нед. с момента инфицирования, обнаружение которых свидетельствует об острой фазе инфекции. Свидетельством острой или недавно перенесенной микоплазменной инфекции является как минимум 4-кратное повышение титра антител IgG в парных сыворотках, собранных с интервалом 2–3 нед. В нашем исследовании не было возможности собрать парные сыворотки, так как многие пациенты, особенно поликлинические, из области и часто второй раз не приезжают.

Данные о поступлениях проб крови для иммунохимического исследования методом ИФА на обнаружение IgM и IgG к *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* от пациентов поликлиники и стационара представлены на рис. 1.

Респираторные инфекции, вызванные *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae*, могут регистрироваться круглый год, однако

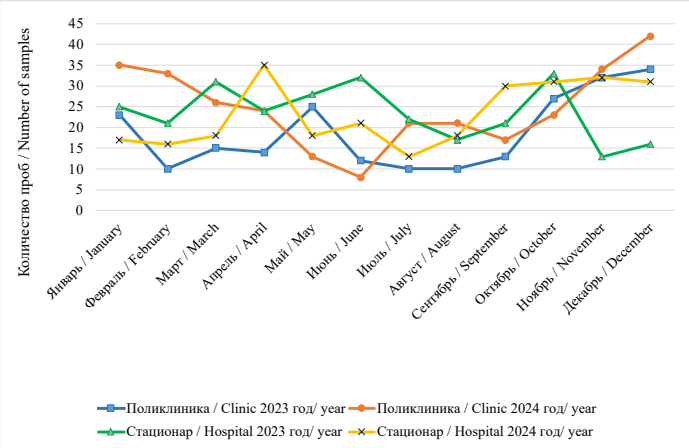


Рис. 1. **Частота поступления проб крови для иммунохимического исследования методом ИФА от пациентов поликлиники и стационара (всего проб / *n* = 1085).**
Fig. 1. ***Frequency of blood sample collection for immunochemical testing using the ELISA method from outpatients and hospital patients (total samples / n = 1085).***

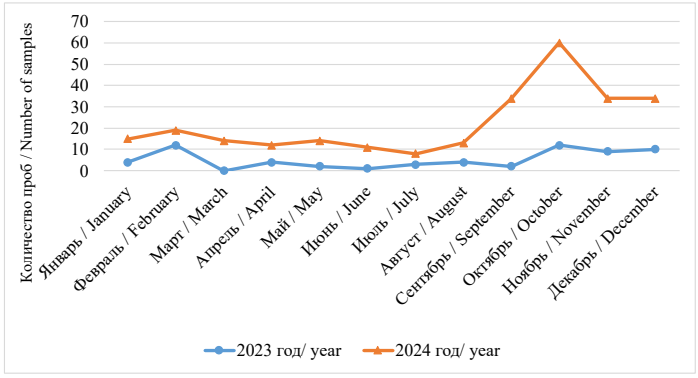


Рис. 2. **Частота поступления проб из нижних дыхательных путей для исследования методом ПЦР от пациентов стационара (всего проб / *n* = 268).**
Fig. 2. ***Frequency of lower respiratory tract samples submitted for PCR testing from hospital patients (total samples / n = 268).***

вспышки заболеваний микоплазмозом чаще происходят в холодное время года – осенью и зимой. Для хламидийной инфекции таких сезонных пиков не выявлено, но она имеет цикличность с шагом примерно в 4 года, при этом заболеваемость регистрируется ежегодно.

В 2024 г. регистрировалось большее количество проб на исследования сыворотки крови в ИФА (рис. 1), что может быть связано с официально зарегистрированным подъемом заболеваемости микоплазменной инфекцией в Китае и разных странах Европы, преимущественно у детей, что опосредованно привело к увеличению заболеваемости микоплазменной инфекцией и в Российской Федерации [3].

В поликлинике увеличение количества проб наблюдается в осенне-зимний период. Подъем в июле–августе 2024 г. связан с повышением заболеваемости ОРВИ, которое может происходить и летом.

Частота обследования пациентов в стационаре увеличивается 2 раза в год – весной и осенью.

Достоверных различий в увеличении обнаружения IgM и сочетания IgM + IgG не выявлено. В то же время частота находок IgG к *M. pneumoniae* в 2024 г. достоверно выше (p = 0,004), чем в 2023 г. (табл. 1), что, возможно, связано с проэпидемичиванием этой инфекцией большего числа детей в условиях подъема заболеваемость в России [3].

У пациентов стационара не выявлено достоверных различий в частоте выявления IgM. При этом в 2024 г. статистически значимо чаще встречались сочетания антител IgM + IgG (p = 0,001) и изолированные IgG (p = 0,03) (табл. 2).

Достоверных различий между 2023 и 2024 гг. в обнаружении специфических антител к *C. pneumoniae* как среди поликлинических, так и среди стационарных пациентов не выявлено (табл. 3, 4).

Хотя достоверных различий не выявлено, обращает на себя внимание, что в 2024 г. идет увеличение частоты обнаружения IgM и сочетания IgM + IgG к *C. pneumoniae* у пациентов стационара. В 11% случаев наблюдалось параллельное выявление IgM или IgM + IgG к *C. pneumoniae* и *M. pneumoniae*.

Наличие специфического инфекционного процесса подтверждается наличием IgM-антител и нарастанием концентрации IgG к *M. pneumoniae* при исследовании парных сывороток пациента с интервалом в 2 нед. Свидетельством острой или недавно перенесенной инфекции может считаться как минимум 4-кратное нарастание титра антител. К сожалению, собрать парные сыворотки, особенно среди амбулаторных пациентов, практически не представляется возможным. В нашем исследовании их не было. При интерпретации результатов серологических методов исследования следует учиты-

Таблица 1. **Частота выявления антител к *M. pneumoniae* у пациентов поликлиники (*n* = 64)**
Table 1. ***Frequency of detection of antibodies to M. pneumoniae in outpatients (n = 64)***

Год / *Year*	Классы антител / *Antibody classes*								
	IgM			IgG			IgM + IgG		
	абс. / *abs.*	%	*p*	абс. / *abs.*	%	*p*	абс. / *abs.*	%	*p*
2023	7	3,1	>0,5	6	2,6	0,004	6	2,6	>0,5
2024	13	4,3		26	8,7		6	2	

Абс. – абсолютные значения; % – та же величина в процентах; *p* – критерий достоверности; IgG – иммуноглобулин класса G; IgM – иммуноглобулин класса M.
Abs. – absolute values; % – the same value as a percentage; p – significance criterion; IgG – immunoglobulin class G; IgM – immunoglobulin class M.

Таблица 2. **Частота выявления антител к *M. pneumoniae* у пациентов стационара (*n* = 90)**
Table 2. ***Frequency of detection of antibodies to M. pneumoniae in hospital patients (n = 90)***

Год / *Year*	Классы антител / *Antibody classes*								
	IgM			IgG			IgM + IgG		
	абс. / *abs.*	%	*p*	абс. / *abs.*	%	*p*	абс. / *abs.*	%	*p*
2023	23	8,1	>0,5	12	4,2	0,03	1	0,3	0,001
2024	17	6,1		24	8,5		13	4,6	

Абс. – абсолютные значения; % – та же величина в процентах; *p* – критерий достоверности; IgG – иммуноглобулин класса G; IgM – иммуноглобулин класса M.
Abs. – absolute values; % – the same value as a percentage; p – significance criterion; IgG – immunoglobulin class G; IgM – immunoglobulin class M.

Таблица 3. **Частота выявления антител к *C. pneumoniae* у пациентов поликлиники (*n* = 45)**
Table 3. ***Frequency of detection of antibodies to C. pneumoniae in outpatients (n = 45)***

Год / *Year*	Классы антител / *Antibody classes*								
	IgM			IgG			IgM + IgG		
	абс. / *abs.*	%	*p*	абс. / *abs.*	%	*p*	абс. / *abs.*	%	*p*
2023	3	1,3	>0,5	13	5,7	>0,5	1	0,4	>0,5
2024	2	0,6		26	8,7		0	0	

Абс. – абсолютные значения; % – та же величина в процентах; *p* – критерий достоверности; IgG – иммуноглобулин класса G; IgM – иммуноглобулин класса M.
Abs. – absolute values; % – the same value as a percentage; p – significance criterion; IgG – immunoglobulin class G; IgM – immunoglobulin class M.

Таблица 4. **Частота выявления антител к *C. pneumoniae* у пациентов стационара (*n* = 74)**
Table 4. ***Frequency of detection of antibodies to C. pneumoniae in hospital patients (n = 74)***

Год / *Year*	Классы антител / *Antibody classes*								
	IgM			IgG			IgM + IgG		
	абс. / *abs.*	%	*p*	абс. / *abs.*	%	*p*	абс. / *abs.*	%	*p*
2023	7	2,4	>0,5	26	9,1	>0,5	3	1,1	>0,5
2024	12	4,2		21	7,5		5	1,7	

Абс. – абсолютные значения; % – та же величина в процентах; *p* – критерий достоверности; IgG – иммуноглобулин класса G; IgM – иммуноглобулин класса M.
Abs. – absolute values; % – the same value as a percentage; p – significance criterion; IgG – immunoglobulin class G; IgM – immunoglobulin class M.

вать то, что достаточно высокий уровень антител класса IgG к *M. pneumoniae* может сохраняться длительное время после перенесенной инфекции либо нарастание титра IgG может быть отсроченным во времени [5].

Поэтому в последнее время для диагностики микоплазменной и хламидийной инфекций все большее значение для определения ДНК возбудителя приобретает ПЦР. Метод ПЦР актуален в диагностике пневмонии, так как характеризуется чувствительностью 85–95% и специфичностью >90% [5].

По нашим данным, в 2024 г. также отмечено увеличение количества проб, с пиком, приходящим на осень (рис. 2).

Безусловно частота обнаружения ДНК *M. pneumoniae* в 2024 г. выше (p = 0,007), чем в 2023 г., что подтверждает наличие вспышки в Свердловской области микоплазменной пневмонии, как и в других регионах России, но скорее всего этот подъем носит циклический характер и в 2025 г. будет снижение заболеваемости (табл. 5).

За 2023 г. параллельное исследование на *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* методом ИФА и ПЦР не проводилось. В 2024 г. у 38 пациентов стационара проведено молекулярно-генетическое и серологическое исследование, и лишь у 5 (13,2%) человек обнаружена ДНК *M. pneumoniae* в материале из нижних дыхательных путей с одновременным выявлением IgM к данному возбудителю в крови.

При интерпретации результатов серологических исследований следует учитывать, что довольно высокий уровень антител класса IgG и IgM может сохраняться длительное время после перенесенной микоплазменной инфекции. Также нарастание титра IgG может быть отсроченным во времени [3].

В настоящее время наиболее часто для диагностики микоплазменной инфекции используются метод ПЦР с детекцией в режиме реального времени и петлевая изотермическая амплификация. В связи с этим мы проанализировали потребность в серологических и молекулярно-биологических исследованиях на *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* за последние 5 лет, что представлено на рис. 3.

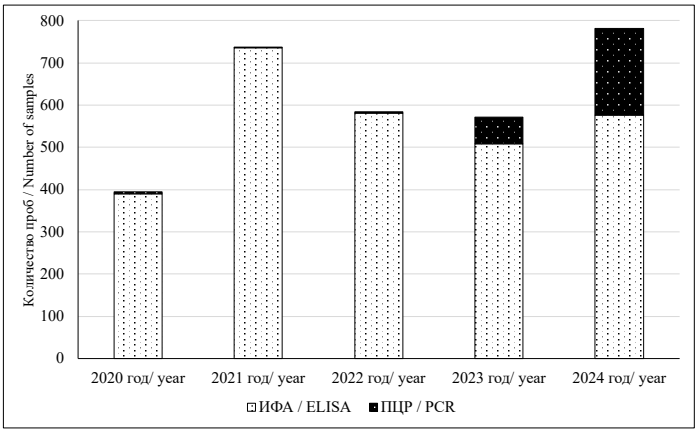


Рис. 3. **Частота иммунохимических и молекулярно-биологических методов диагностики *M. pneumoniae*- и *C. pneumoniae*-инфекции 2000–2024 гг. (всего проб / *n* = 3070).**
Fig. 3. ***Frequency of immunochemical and molecular biological methods for diagnosing M. pneumoniae and C. pneumoniae infections in 2000–2024 years (total samples / n = 3070).***

Таблица 5. **Частота выявления ДНК *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* у пациентов стационара (*n* = 29)**
Table 5. ***Frequency of detection of M. pneumoniae and C. pneumoniae DNA in hospital patients (n = 29)***

Год / *Year*	*M. pneumoniae*			*C. pneumoniae*		
	абс. / *abs.*	%	*p*	абс. / *abs.*	%	*p*
2023	1	1,6	0,007	0	0	0
2024	28	13,6		0	0	

Из представленных данных видно увеличение молекулярно-генетических методов от 1–2% в 2020–2022 до 11,1–26,3% в 2023–2024 гг. Назначение ПЦР-исследований, вероятно, связано с прошедшей пандемией COVID-19 и оснащением лабораторий необходимым оборудованием для проведения ПЦР. Но необходимо помнить, что для выявления *M. pneumoniae* при пневмонии более высокую диагностическую ценность имеют мокрота, бронхоальвеолярный лаваж по сравнению с орофарингеальными, назофарингеальными мазками или назофарингеальным аспиратом, что объясняется большей концентрацией возбудителя в нижних дыхательных путях [3]. Поэтому у пациентов с пневмонией для проведения ПЦР следует использовать материал из нижних дыхательных путей и только при невозможности его получения – образцы из верхних дыхательных путей.

Заключение

На основании микробиологических исследований установлено, что в 2024 г. была вспышка микоплазменной пневмонии у детей Свердловской области. По эпидемиологическим наблюдениям микоплазменная инфекция носит циклический

характер, встречаются 3–4-летние подъемы заболеваемости у детей и в 2025 г. не прогнозируется подъем заболеваемости. Сезонных изменений и отличий за исследуемые годы при выявлении этиологии острых респираторных заболеваний, вызванных *C. pneumoniae*, не было обнаружено.

Важность выявления именно *M. pneumoniae* и *C. pneumoniae* при респираторной инфекции, особенно при острых пневмониях у детей, обусловлена прежде всего необходимостью назначения этиотропной терапии, так как эти микроорганизмы нечувствительны к β-лактамам и появление информации об их обнаружении полностью меняет тактику антибактериальной терапии и требует назначения макролидов.

Для доказательства этиологии острых респираторных заболеваний и пневмонии необходимо применение иммунохимических и молекулярно-генетических исследований, при внебольничной пневмонии наиболее важным является исследование мокроты методом ПЦР.

Источники финансирования

Исследование проведено в рамках бюджетного финансирования.

Funding

The study was conducted within the framework of budgetary funding.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Боронина Л.Г. – концепция и дизайн исследования, редактирование; Саматова Е.В. – сбор и обработка материала, статистика, подготовка текста; Кочнева Н.А. – концепция и дизайн исследования редактирование.

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

Boronina L.G. – study concept and design, editing; Samatova E.V. – data collection and processing, statistics, text preparation; Kochneva N.A. – study concept, design, editing.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Данилов АИ, Петроченкова НА, Ковалева ЛА. Современные особенности внебольничной пневмонии, вызванной *Clamydophyla pneumoniae*. Лечащий врач. 2019;3:93.
2. Эйдельштейн ИА. *Mycoplasma pneumoniae* – современные данные о строении, молекулярной биологии и эпидемиологии возбудителя. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2023;25(4):332-349. DOI: 10.36488/cmac.2023.4.332-349
3. Рачина СА, Купрюшина ОА, Яснева АС, Волосовцова ЕС, Стрелкова ДА, Авдеев СН, и др. Что мы знаем о микоплазменной пневмонии? Практическая пульмонология 2023;3:20-30. DOI: 10.24412/2409-6636-2023-13021
4. Бевза СЛ, Молочкова ОВ, Ковалев ОБ, Шамшева ОВ, Сахарова АА, Корсунский АА, и др. Сравнительная характеристика пневмоний, вызванных *Mycoplasma pneumoniae*, у детей. Журнал инфектологии. 2023;15(3):110-118. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-3-110-118
5. Юлиш ЕИ, Чернышева ОИ, Конюшевская АА, Талалаенко АК. Особенности клиники, диагностики, лечения микоплазменной пневмонии у детей. Здоровье ребенка. 2014;52(1):97-102.

References

1, Danilov AI, Petrochenkova NA, Kovaleva NA. Modern characteristics of publicly acquired pneumonia caused by *Clamydophyla pneumoniae*. Lechaschi vrach. 2019;3:93. (In Russian).
2. Edelstein IA. *Mycoplasma pneumoniae* – modern data on the structure, molecular biology and epidemiology of the pathogen. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2023;25(4):332-349. DOI: 10.36488/cmac.2023.4.332-349. (In Russian).
3. Rachina SA, Kupryushina OA, Yasneva AS, Volosovtsova ES, Strelkova DA, Avdeev SN, et al. What do we know about mycoplasmal pneumonia? Practical Pulmonology. 2023;3:20-30. DOI: 10.24412/2409-6636-2023-13021. (In Russian).
4. Bevza SL, Molochkova OV, Kovalev OB, Shamsheva OV, Sakharova AA, Korsunsky AA, et al. Comparative characteristics of pneumonia caused by *Mycoplasma pneumoniae* in children. Journal Infectology. 2023;15(3):110-118. DOI: 10.22625/2072-6732-2023-15-3-110-118 (In Russian).
5. Yulish Yel, Chernyshova OYe, Konyushevskaya AA, Talalayenko AK. Features of clinical presentation, diagnosis and treatment of mycoplasmal pneumonia in children. Child Health. 2014;52(1):97-102. (In Russian).

Информация о соавторах:

Саматова Елена Валерьевна, кандидат медицинских наук, врач-бактериолог лаборатории клинической микробиологии ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница»
ORCID: 0000-0003-3154-6201

Кочнева Наталья Александровна, начальник лабораторного отдела ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», главный внештатный специалист по медицинской микробиологии Уральского федерального округа
ORCID: 0009-0009-4020-0959

Information about co-authors:

Elena V. Samatova, PhD, MD, Bacteriologist at the Clinical Microbiology Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital
ORCID: 0000-0003-3154-6201

Natalya A. Kochneva, Head of the Laboratory Department, Regional Children's Clinical Hospital; Chief Freelance Specialist in Medical Microbiology of the Ural Federal District
ORCID: 0009-0009-4020-0959

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 50–56
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 50–56

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-50-56

Совершенствование мониторинга водных объектов окружающей среды на наличие холерных вибрионов

М.И.Ежова, В.Д.Кругликов, Е.А.Меньшикова, О.В.Дуванова, Л.А.Егиазарян, В.С.Казьмина, П.В.Бодрая, Е.С.Шипко, И.П.Олейников, А.К.Зубкова, М.М.Сагакянц, В.А.Лычман

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

В условиях эпидемиологических рисков завоза холеры плановые мониторинговые исследования на наличие холерных вибрионов в водных объектах являются ключевой составляющей эпидемиологического надзора за этой инфекцией. При чрезвычайных ситуациях (ЧС) санитарно-эпидемиологического характера количество исследований по эпидпоказаниям, как правило, в разы превышает объем плановых обследований, что может привести к перегрузке лабораторной службы.

Цель. Апробация сокращенной схемы лабораторного исследования на холеру проб из водных объектов в условиях ЧС (при увеличении количества исследуемых проб в связи с введением дополнительных точек, увеличением кратности обследования).

Материалы и методы. Исследования проводили как с помощью разработанной сокращенной схемы, основанной на преимущественном применении ускоренных методов диагностики, так и регламентированной в методическом документе по лабораторной диагностике холеры.

Результаты. В сравнительных исследованиях с помощью регламентированной и сокращенной схем исследования получены сопоставимые данные. В результате мониторинговых исследований, проведенных в 2021–2025 гг. в лабораториях Роспотребнадзора в 5 субъектах России и в Республике Таджикистан, выделено 63 культуры *Vibrio cholerae* O1 и 873 *V. cholerae* nonO1/nonO139.

Заключение. Сокращенная схема может быть рекомендована для использования при проведении исследований проб воды по эпидпоказаниям в условиях ЧС, при эпидрасследованиях случаев обнаружения холерных вибрионов серогрупп O1/O139 в воде, а также для перспективной оптимизации планового мониторинга на холеру водных объектов.

Ключевые слова: чрезвычайные ситуации, сокращенная схема, Vibrio cholerae, водные объекты окружающей среды, ускоренные методы лабораторной диагностики

Для цитирования: Ежова М.И., Кругликов В.Д., Меньшикова Е.А., Дуванова О.В., Егиазарян Л.А., Казьмина В.С., Бодрая П.В., Шипко Е.С., Олейников И.П., Зубкова А.К., Сагакянц М.М., Лычман В.А. Совершенствование мониторинга водных объектов окружающей среды на наличие холерных вибрионов. Бактериология. 2026; 11(2): 50–56. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-50-56

Enhancement of environmental water body monitoring for the presence of *Vibrio cholerae*

M.I.Ezhova, V.D.Kruglikov, E.A.Menshikova, O.V.Duvanova, L.A.Egiazaryan, V.S.Kazmina, P.V.Bodraya, E.S.Shipko, I.P.Oleynikov, A.K.Zubkova, M.M.Sagakyants, V.A.Lychman

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

In conditions of epidemiological risks of cholera importation, routine monitoring studies for the presence of *Vibrio cholera* in water bodies are a key component of epidemiological surveillance of this infection. In emergency situations (emergencies) of a sanitary and epidemiological nature, the number of studies on epidemiological indications, as a rule, is several times higher than the volume of scheduled examinations, which can lead to an overload of the laboratory service.

Goal. Approbation of a shortened scheme for laboratory testing of samples from water bodies for cholera in emergency situations (with an increase in the number of samples studied due to the introduction of additional points and an increase in the frequency of examinations).

Materials and methods. The research was carried out both using the developed abbreviated scheme based on the preferential use of accelerated diagnostic methods, and regulated in the methodological document on laboratory diagnosis of cholera.

Results. In comparative studies, comparable data were obtained using regulated and abbreviated research schemes. As a result of monitoring studies conducted in 2021–2025 in Rospotrebnadzor laboratories in five regions of Russia and the Republic of Tajikistan, 63 cultures of *V. cholerae* O1 and 873 *V. cholerae* nonO1/nonO139 were isolated.

Для корреспонденции:

Ежова Мария Ивановна, 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
Телефон: (863) 240-9133
E-mail: ezhova_mi@antiplague.ru
ORCID: 0000-0003-4254-3313

Статья поступила 27.02.2026 принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Maria I. Ezhova, Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor

Address: 117 M.Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation
Phone: (863) 240-9133
E-mail: ezhova_mi@antiplague.ru
ORCID: 0000-0003-4254-3313

The article was received 27.02.2026, accepted for publication 30.06.2026

Conclusions. The abridged scheme can be recommended for use in conducting studies of water samples according to epidemiological indications in emergency situations, in epidemiological studies of cases of detection of V. cholera O1/O139 serogroups in water, as well as for prospective optimization of planned monitoring for cholera in water bodies.
Key words: emergencies, abbreviated scheme, Vibrio cholerae, water bodies of the environment, accelerated methods of laboratory diagnostics

For citation: Ezhova M.I., Kruglikov V.D., Menshikova E.A., Duvanova O.V., Egiazaryan L.A., Kazmina V.S., Bodraya P.V., Shipko E.S., Oleynikov I.P., Zubkova A.K., Sagakyants M.M., Lychman V.A. Enhancement of environmental water body monitoring for the presence of *Vibrio cholerae*. Bacteriology. 2026; 11(2): 50–56. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-50-56

В настоящее время холера по-прежнему остается проблемой мирового здравоохранения. Мониторинг холеры является одним из основных звеньев эпидемиологического надзора, от своевременности результатов которого зависит оперативность проведения противоэпидемических (профилактических) мероприятий [1, 2].

Профилактические плановые мониторинговые исследования по регламентированной схеме, направленные на обнаружение холерных вибрионов в объектах окружающей среды (ООС), занимают от 3 до 5 суток и требуют определенного объема материально-технического обеспечения [3, 4], что в условиях чрезвычайных ситуаций (ЧС) санитарно-эпидемиологического характера, при необходимости исследования больших объемов образцов в сжатые сроки, представляет серьезную проблему. При кратном увеличении объема исследуемых проб в условиях ЧС или при добавлении точек отбора проб по эпидемиологическим показаниям (особенно при выделении токсигенного штамма) в стационарной лаборатории или в мобильном комплексе (МК) специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) нагрузка на материально-техническую лабораторную базу существенно возрастает [5]. Кроме того, при выявлении атипичных штаммов холерных вибрионов, отличающихся, например, по агглютинабельности, на первых этапах исследования по регламентированной схеме не всегда удается с достаточной точностью дифференцировать серогруппы штаммов *Vibrio cholerae* O1/O139 от *V. cholerae* nonO1/nonO139 и оценить их эпидемическую значимость [6]. Более того, способность некоторых штаммов *V. cholerae* переходить в некультивируемую форму еще больше снижает результативность лабораторной диагностики проб на холеру бактериологическими методами и затрудняет обнаружение возбудителя в пробах воды [7].

В связи с вышесказанным применение ускоренных методов диагностики холеры приобретает первостепенное значение. Современные российские ПЦР тест-системы для идентификации *V. cholerae* позволяют не только выявить возбудитель в образцах, но и оценить его эпидемическую значимость на первичных этапах диагностики холеры, что важно при дифференциации токсигенных штаммов от нетоксигенных вариантов с целью принятия оперативных решений в области санитарно-эпидемиологического контроля [8]. Такой комплексный подход делает мультиплексные ПЦР-системы перспективным инструментом при исследовании больших объемов образцов из водных ООС на наличие холерных вибрионов, обеспечивая высокую специфичность и чувствительность идентификации, а также оперативность выявления возбудителя в случае завоза холеры.

Кроме того, MALDI-ToF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight) масс-спектрометрия, позволяющая идентифицировать микроорганизмы, обеспечивает дополнительные возможности для ускоренной идентификации культур *V. cholerae* [9]. Применение MALDI-ToF после предварительного выделения культур на селективно-дифференциальных средах (TCBS, щелочной агар (ЩА)) позволяет значительно сократить время получения предварительного результата: с 3–5 суток до 24–48 ч, обеспечивая подтверждение видовой принадлежности к *V. cholerae*.

В условиях возрастания эпидемиологических рисков завоза холеры внедрение современных, ускоренных молекулярно-биологических методов на всех этапах исследований проб воды из ООС становится приоритетной задачей лабораторной диагностики холеры.

Цель исследования – апробация сокращенной схемы лабораторного исследования на холеру проб из водных ООС в условиях ЧС (при увеличении количества исследуемых проб в связи с введением дополнительных точек, увеличением кратности обследования).

Материалы и методы

В работе использованы данные мониторинговых исследований, проведенных: в СПЭБ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора – в рамках тактико-специальных учений (2021 г.), при работе в условиях ЧС в г. Новоазовске и г. Мариуполе (2022–2023 гг.); при плановых мониторинговых исследованиях во ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора (2022–2024 гг.), ФГКУЗ ПЧС Республики Крым Роспотребнадзора (2021 г., 2022 г.), ФБУЗ ЦГиЭ Республики Крым (2022 г.), ФКУЗ «Астраханская ПЧС» Роспотребнадзора (2022 г.), Центр государственного санитарно-эпидемиологического надзора Хатлонской области в Республике Таджикистан (2025 г.).

В сравнительных исследованиях использовались регламентированная схема исследования [3, 4] и рекомендованная сокращенная схема, адаптированная для работы в условиях ЧС. Схема основана на преимущественном использовании ускоренных методов диагностики и предусматривает определение генетических детерминант *V. cholerae* в аликвотах первой среды накопления (I ПВ) при проведении ПЦР-исследований. В случае получения отрицательных результатов дальнейшие бактериологические исследования проб не проводились. При положительном результате осуществлялось дальнейшее молекулярно-генетическое и бактериологическое исследование с целью выделения культуры холерного вибриона. Идентификация изолированных культур (определение родовой, видовой, серогрупповой принадлежности и установление эпидемической значимости) осущест-

влялась по сочетанию результатов окси-теста, реакции слайд-агглютинации с диагностическими холерными сыворотками, метода флуоресцирующих антител (МФА), иммунохроматографического анализа (ИХА), ПЦР-анализа, а также с помощью набора систем индикаторных бумажных (СИБ) для идентификации микроорганизмов или, при наличии оборудования, с помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии. Использование полиуглеводных сред в сокращенной схеме не предусматривалось.

При проведении молекулярно-генетических исследований выделение ДНК возбудителя холеры из образцов осуществляли с помощью набора реагентов «Рибо-Преп», а ПЦР-детекцию – тест-системой «АмплиСенс® *Vibrio cholerae*-FL» в соответствии с прилагаемыми инструкциями.

Результаты исследования и их обсуждение

В действующих методических документах [3, 4] предусмотрено исследование клинического материала по сокращенной схеме с использованием молекулярно-генетических и других ускоренных методов. Однако сокращенная схема исследования проб воды из ООС в указанных методических документах не обозначена. Вместе с тем необходимость ее использования в условиях ЧС обусловлена резким увеличением количества исследуемых проб по эпидпоказаниям в связи с введением дополнительных точек отбора, возрастанием кратности обследования водных объектов и необходимостью получения результатов в максимально сжатые сроки.

В этой связи была разработана «Схема с преимущественным применением ускоренных методов диагностики холеры в условиях ЧС» при проведении исследований как в стационарных лабораториях, так и в условиях функционирования МК СПЭБ. Схема впервые была применена в 2021 г. специалистами Референс-центра по мониторингу за холерой в ходе плановых тактико-специальных учений на базе отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций (ОКИ) и в МК СПЭБ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора. Методология учений предусматривала использование двух идентичных комплектов имитационных проб, содержащих по 8 образцов каждый. В каждом комплекте 6 проб содержали жизнеспособные культуры холерных вибрионов различных генотипов и сероваров, а 2 пробы не содержали генетических маркеров холерных вибрионов. Один комплект проб исследовался в стационарной лаборатории отдела микробиологии холеры и других ОКИ регламентированным методом в соответствии с действующими методическими указаниями по лабораторной диагностике холеры, а другой комплект одновременно направлялся в МК СПЭБ для исследования по разработанной сокращенной схеме. При проведении исследований в МК СПЭБ для ПЦР-анализа отбирали аликвоты из нативного материала пробы, I ПВ и второй среды накопления (II ПВ) после культивирования в течение 4 ч при температуре 37 ± 1°С. По результатам исследования в МК СПЭБ по разработанной сокращенной схеме при ПЦР-детекции аликвот проб из нативного материала генетические маркеры холерных вибрионов выявлены не были, а уже при исследовании I ПВ в шести были выявлены генетические детерминанты холерных вибрионов. При молекулярно-генетическом исследовании аликвот проб из II ПВ было показано уменьшение пороговых циклов (Ct) в положительных пробах по сравнению со значениями Ct, полученными при исследовании аликвот проб из I ПВ, что свидетельствовало о наличии жизнеспособных клеток *V. cholerae*, способных к размножению в питательной среде. В дальнейшем при бактериологическом исследовании этих проб были выделены и идентифицированы культуры холерных вибрионов из всех 6 ПЦР-положительных проб (табл. 1).

Таблица 1. **Результаты проведенного по сокращенной схеме исследования нативного материала, I ПВ и II ПВ**
Table 1. ***The results of a shortened study of native material, I PW and II PW***

№ пробы/ *№ samples*	Результаты ПЦР (Ct) / *PCR results(Ct)*			Результаты бактериологического исследования / *The results of the bacteriological study*
	натив / *native*	1 пептон / *1 peptone*	2 пептон / *2 peptone*	
1	–	28,3	22,3	*V. cholerae* O1 Ogawa
2	–	–	–	–
3	–	27,9	21,5	*V. cholerae* O1 Inaba
4	–	26,1	19,5	*V. cholerae* O1Inaba
5	–	28,5	21,2	*V. cholerae* nonO1/nonO139
6	–	–	–	–
7	–	29,5	23,2	*V. cholerae* O1Inaba
8	–	27,3	21,7	*V. cholerae* nonO1/nonO139

Результаты, полученные в МК СПЭБ, полностью коррелировали с данными, полученными в стационарной лаборатории, где исследования проводились по регламентированной схеме, что подтвердило эффективность разработанной схемы при исследовании на холеру проб из водных ООС.

Кроме того, в разработанной сокращенной схеме не использовали в процессе исследования полиуглеводные среды, что позволило сократить время, затрачиваемое на проведение анализа, в отличие от исследования проб, проводимых на базе стационарной лаборатории по регламентированной в методических указаниях схеме (рисунок).

Методические подходы, сходные с разработанной схемой, применялись и другими организациями при проведении мониторинговых исследований на холеру. Однако применение этих схем отличалось по методике и целевым установкам. Если разработанная авторская схема была адаптирована для работы в ЧС, для максимального сокращения времени анализа при сохранении полноты диагностической информации и ориентирована в первую очередь на выявление холерных вибрионов серогрупп O1/O139, то схемы, описанные другими авторами [8, 10], позиционировались преимущественно для проведения плановых мониторинговых исследований в условиях санитарно-эпидемиологического благополучия по холере.

После проведения учений схема была окончательно доработана с учетом выявленных нюансов и было принято решение о проведении дальнейшей апробации данной схемы как в стационарных лабораториях Роспотребнадзора при плановом мониторинге водных ООС на наличие холерных вибрионов с возможностью применения для идентификации выделенных культур MALDI-ToF масс-спектрометрии, так и в условиях ЧС в МК с возможностью применения СИБ.

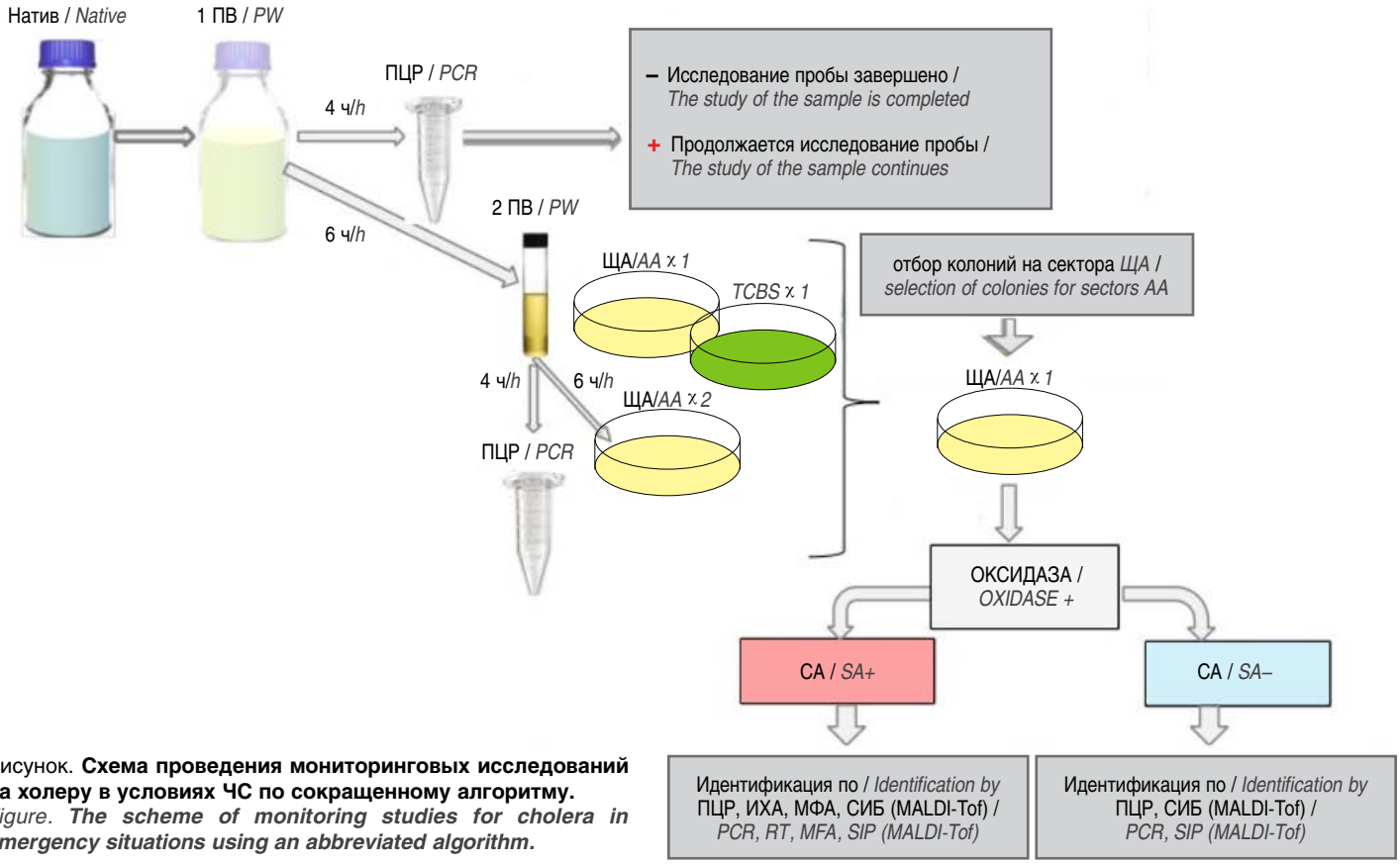


Рисунок. **Схема проведения мониторинговых исследований на холеру в условиях ЧС по сокращенному алгоритму.**
*Figure. **The scheme of monitoring studies for cholera in emergency situations using an abbreviated algorithm.***

Таким образом, с 2021 по 2025 г. апробация разработанной схемы была проведена на базе 4 стационарных лабораторий учреждений Роспотребнадзора и 2 МК, один из которых принадлежал СПЭБ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора и территориально находился во время апробации в Донецкой Народной Республике (ДНР), а другой принадлежал министерству здравоохранения и социальной защиты Республики Таджикистан (табл. 2).

В 2021 г. в условиях ЧС сочетанного характера (природного и санитарно-эпидемиологического) на территории Республики Крым на базе стационарной лаборатории ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым» Роспотребнадзора группой специалистов СПЭБ Ростовского-на-Дону противочумного института Роспотребнадзора при использовании адаптированной схемы было исследовано 280 проб воды. После проведения ПЦР-исследований I ПВ генетические маркеры холерных вибрионов серогруппы О1 были обнаружены в 25 (9,0%) исследуемых пробах, и при дальнейшем проведении бактериологических исследований из 3 дополнительных точек отбора в г. Керчи («Морской вокзал»; «р. Мелек-Чесме, ул. Кирова»; «р. Джарджава возле военной части») были выделены 10 штаммов *V. cholerae* O1 El Tor ctxA$^-$ tcpA$^-$: серовара Огава – 6, серовара Инаба – 4, а также 64 культуры *V. cholerae* nonO1/nonO139 [5]. В 2022 г. были осуществлены параллельные скрининговые мониторинговые исследования на базе этой же лаборатории ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым» Роспотребнадзора по сокращенной схеме и параллельно на базе стационарной лаборатории ФБУЗ «ЦГиЭ Республики Крым» по регламентированной схеме. При исследовании по сокращенной схеме водных ООС Республики Крым 3 июня 2022 г. из дополнительной точки отбора (г. Керчь, река Джарджава, возле воинской части, место неорганизованного рекреационного водопользования) был выделен штамм *V. cholerae* O1 *ctxA*$^-$*tcpA*$^-$ серовара Инаба. В результате филогенетического анализа полногеномного секвенирования была подтверждена связь штамма с выделенными культурами из данной точки отбора в 2021 г., при использовании регламентированной схемы культуры холерного вибриона серогруппы О1 выделить не удалось. По результатам использования разработанной схемы был получен акт внедрения.

В этом же году схема также была апробирована при скрининговых плановых мониторинговых исследованиях проб воды на базе стационарной лаборатории ФКУЗ «Астраханская ПЧС» Роспотребнадзора. По итогам использования адаптированной для работы в условиях ЧС схемы при исследовании 30 проб воды в 73,0% случаев были выявлены культуры *V. cholerae* nonO1/nonO139, что полностью коррелировало с результатами, полученными при проведении мониторинга проб по регламентированной схеме. По результатам использования разработанной схемы был получен акт внедрения.

В дальнейшем разработанная схема была использована при работе СПЭБ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора в условиях ЧС в ДНР (Мариуполь, Новоазовск, 2021–2023 гг.), где при исследовании 728 проб в 28,3% случаев были выявлены холерные вибрионы, из которых 6 (0,3%) являлись штаммами *V. cholerae* O1 и 138 (28%) – *V. cholerae* nonO1/nonO139.

В референс-центре по мониторингу за холерой на базе отдела микробиологии холеры и других ОКИ с 2021 по

Таблица 2. **Результаты мониторинговых исследований водных ООС при исследовании по регламентированной и сокращенной схемам, 2021–2025 гг.**
Table 2. ***Results of monitoring studies of water environmental management systems in the study of regulated and abbreviated schemes, 2021–2025***

Наименование организации / *Name of the organization*	Год апробации / *The year of approbation*	Исследовано проб / *Samples examined*	Выявлены при использовании схемы / *Identified when using the scheme:*	
			регламентированной / *regulated*	сокращенной / *abbreviated*
			V. cholerae O1 / *V. cholerae nonO1/nonO139*	
Исследования проведены в МК / *The research was conducted in MK*				
СПЭБ ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора / *SPEB FSHI Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor*	2022	355	2/111	2/111
	2023	373	0/25	0/25
МК ЦГСЭН Республики Таджикистан / *MC TSSEN of the Republic of Tajikistan*	2025	48	–*	0/22
Исследования проведены в стационарных лабораториях / *The research was carried out in stationary laboratories*				
ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым» Роспотребнадзора / *FGKUZ FSHI of the Republic of Crimea of Rospotrebnadzor*	2021	280	10/64	10/64
ФБУЗ «ЦГиЭ Республики Крым» Роспотребнадзора / *FBHI, CH and E of the Republic of Crimea of Rospotrebnadzor*	2022	3	–	1/3
ФГКУЗ «ПЧС Республики Крым» Роспотребнадзора / *FGKUZ APS of the Republic of Crimea of Rospotrebnadzor*			0/3	–
ФКУЗ «Астраханская ПЧС» Роспотребнадзора / *FSHI Astrakhan APS of Rospotrebnadzor*	2022	30	0/22	0/22
ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора / *FSHI Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor*	2021	158	10/112	10/112
	2022	306	21/183	21/183
	2023	203	11/157	11/157
	2024	243	8/174	8/174

* исследования не проводились.

2024 г. разработанная сокращенная схема была использована в мониторинговых исследованиях проб водных ООС параллельно с регламентируемой. Специалистами ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора исследовано 910 проб из стационарных точек водных ООС. В 74,0% случаев в этих пробах были выявлены культуры холерных вибрионов, из которых 5,4% приходилось на культуры *V. cholerae* ,O1 с различной генетической характеристикой: 16 штаммов – *ctxA*$^-$*tcpA*$^-$; 31 – *ctxA*$^-$ *tcpA*$^+$; 3 – *ctxA*$^+$*tcpA*$^+$, а 68,7% – на культуры *V. cholerae* nonO1/nonO139.

В 2025 г. апробация данной схемы была осуществлена на базе МК ЦГСЭН Хатлонской области Республики Таджикистан (получен акт внедрения). В ходе исследования проб воды, доставленных из 8 районов Хатлонской области и г. Бохтар, в 64,6% случаев при исследовании методом ПЦР аликвот проб I ПВ были выявлены генетические маркеры холерных вибрионов (8,3% – *V. cholerae* O1, 56,0% – *V. cholerae* nonO1/nonO139). При дальнейших бактериологических исследованиях этих проб были выявлены 22 культуры *V. cholerae* nonO1/nonO139.

В ходе апробации разработанной схемы в общей сложности было исследовано 1999 проб и выделено 63 культуры *V. cholerae* O1 и 873 – *V. cholerae* nonO1/nonO139. Сопоставимость результатов, полученных в ходе апробации по сокращенной и регламентированной схемам, подтвердила действенность методики исследования проб на наличие холерных вибрионов из водных ООС. Уменьшение времени, затрачиваемого на проведение анализа проб при использовании сокращенной схемы, представляется ключевым преимуществом, особенно важным в условиях ЧС, где необходимо максимально сокращать сроки выполнения исследований при возрастающей кратности обследования водных объектов.

Заключение

Таким образом, разработанная сокращенная схема мониторинговых исследований на холеру, адаптированная для работы в условиях ЧС в стационарных лабораториях и в МК СПЭБ, позволяет оптимизировать исследования с сохранением их эффективности. Был снижен объем бактериологических исследований (количество исследуемых проб) за счет исключения ПЦР-отрицательных образцов; сокращено время, затрачиваемое на выделение и идентификацию культур; снижены трудозатраты.

Данная схема рекомендована авторами для использования в условиях ЧС, в т.ч. при работе в МК СПЭБ Роспотребнадзора, а также при эпидрасследованиях случаев обнаружения холерных вибрионов O1/O139 в воде (при увеличении количества исследуемых проб и кратности обследования). Разработанная схема представляется перспективной для оптимизации плановых мониторинговых исследований водных ООС на наличие холерных вибрионов.

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding

No funding was received for conducting this study and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Ежова М.И. – разработка дизайна исследований, выполнение исследований, получение и анализ данных, написание текста рукописи, визуализация результатов; Кругликов В.Д. – разработка дизайна исследований, анализ и интерпретация результатов, финальное редактирование текста рукописи; Меньшикова Е.А. – выполнение исследований, редактирование текста рукописи; Дуванова О.В. – выполнение исследований, редактирование текста рукописи; Егиазарян Л.А. – выполнение исследований; Казьмина В.С. – сбор и анализ литературных источников, выполнение исследований; Бодрая П.В. – выполнение исследований; Шипко Е.С. – выполнение исследований; Олейников И.П. – выполнение исследований; Зубкова А.К. – выполнение исследований; Сагакянц М.М. – выполнение исследований; Лычман В.А. – выполнение исследований.

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 contribution

Ezhova M.I. – study design, research execution, data acquisition and analysis, manuscript writing, results visualization; Krugikov V.D. – study design, analysis and interpretation of results, final editing of the manuscript; Menshikova E.A. – research execution, manuscript editing; Duvanova O.V. – research execution, manuscript editing; Egiazaryan L.A. – research execution; Kazmina V.S. – literature search and analysis, research execution; Bodraya P.V. – research execution; Shipko E.S. – research execution; Oleynikov I.P. – research execution; Zubkova A.K. – research execution; Sagakyants M.M. – research execution; Lychman V.A. – research execution.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Попова АЮ, Носков АК, Ежлова ЕБ, Кругликов ВД, Монахова ЕВ, Чемисова ОС, и др. Эпидемиологическая ситуация по холере в Российской Федерации в 2023 г. и прогноз на 2024 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2024;1:76-88. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-76-88
2. Кругликов ВД, Гаевская НЕ, Монахова ЕВ, Москвитина ЭА, Агафонова ВВ, Савина ИВ, и др. Анализ особенностей эпидемиологической ситуации по холере в 2024 г. в мире, в Российской Федерации и прогноз ее развития на 2025 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2025;1:35-47. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-35-47
3. МУК 4.2.3745-22. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Методы лабораторной диагностики холеры. Методические указания (утв. Роспотребнадзором 12.05.2022) (ред. от 31.05.2024) [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://internet-law.ru/documents/prod/zhurnal_forma/2/muk_4.html?ysclid=mp55s6v9e4251963046 (дата обращения 14.05.2026).
4. МУК 4.2.3746-22. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня. Методические указания (утв. Роспотребнадзором 12.05.2022) (ред. от 27.09.2024) [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://internet-law.ru/documents/prod/metodicheskie-ukazaniya/0/muk_4_62102.html?ysclid=mp56ilxaua830562798 (дата обращения 14.05.2026).
5. Соболева ЕГ, Кузнецова ДА, Кругликов ВД, Пичурина НЛ, Добровольский ОП, Сокиркина ЕН, и др. Тактические особенности функционирования СПЭБ Роспотребнадзора на территории Республики Крым в условиях, характерных для чрезвычайной ситуации сочетанного характера. Проблемы особо опасных инфекций. 2023;2:153-159. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-153-159
6. Григоренко ЛВ, Кругликов ВД, Мазрухо АБ, Архангельская ИВ, Зубкова ДА, Непомнящая НБ, и др. Холерные вибрионы неО1/неО139, выделенные в ходе мониторинга водоемов и стоков Ростова-на-Дону с 2009 по 2011 год. Проблемы особо опасных инфекций. 2013;4:48-50. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-48-50
7. Меньшикова ЕА, Титова СВ, Водопьянов СО, Мелоян МГ, Селянская НА, Кругликов ВД. Влияние температуры на переход *Vibrio cholerae* O1 El Tor из биопленки в некультивируемое состояние. Бактериология. 2024;9(2):8-13. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-2-8-13
8. Миронова ЛВ, Пономарева АС, Басов ЕА, Федотова ИС, Хункхеева ЗЮ, Фортунатова АВ, и др. Оценка эффективности выявления генетических детерминант *Vibrio cholerae* при мониторинге вибриофлоры водных объектов. Проблемы особо опасных инфекций. 2021;3:89-97. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-89-97
9. Полеева МВ, Чемисова ОС, Меньшикова ЕА, Сагакянц ММ, Курбатова ЕМ. Изучение биопленок штаммов *V. cholerae* на поверхностях биотических и абиотических субстратов с помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии. Медицинский вестник Юга России. 2020;11(2):94-101. DOI: 10.21886/2219-8075-2020-11-2-94-101
10. Попова АЮ, Амирзода АА, Миронова ЛВ, Гулмахмадзода ЗГ, Чумачкова ЕА, Сеничкина АМ, и др. Сотрудничество Российской Федерации и Республики Таджикистан в области обеспечения санитарно-эпидемиологического благополучия: итоги совместных мероприятий по предотвращению завоза и распространения холеры на территории Республики Таджикистан в 2024 г. и перспективы взаимодействия. Проблемы особо опасных инфекций. 2025;3:6-17. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-6-17

References

1. Popova AYu, Noskov AK, Yezhlova EB, Kruglikov VD, Monakhova EV, Chemisova OS, et al. Epidemiological situation of cholera in the Russian Federation in 2023 and forecast for 2024. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2024;1:76-88. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-1-76-88 (In Russian).

2. Kruglikov VD, Gaevskaya NE, Monakhova EV, Moskvitina EA, Agafonova VV, Savina IV, et al. Analysis of the features of the epidemiological situation of cholera in 2024 in the world, in the Russian Federation and the forecast of its development for 2025. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2025;1:35-47. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-35-47 (In Russian).
3. MUK 4.2.3745-22. 4.2. Control methods. Biological and microbiological factors. Methods of laboratory diagnostics of cholera. Guidelines (approved by Rospotrebnadzor on 12.05.2022) (as amended on 31.05.2024) [Electronic resource]. Available at: https://internet-law.ru/documents/prod/zhurnal_forma/2/muk_4.html?ysclid=mp55s6v9e4251963046 (accessed 14.05.2026). (In Russian).
4. MUK 4.2.3746-22. 4.2. Control methods. Biological and microbiological factors. Organization and implementation of laboratory diagnostics of cholera in laboratories of various levels. Methodological guidelines (approved by Rospotrebnadzor on 12.05.2022) (as amended on 27.09.2024) [Electronic resource]. Available at: https://internet-law.ru/documents/prod/metodicheskie-ukazaniya/0/muk_4_62102.html?ysclid=mp56ilxaua830562798 (accessed 14.05.2026). (In Russian).
5. Soboleva EG, Kuznetsova DA, Kruglikov VD, Pichurina NL, Dobrovolsky OP, Sokirkina EN, et al. Tactical features of the functioning of the SPEB of Rospotrebnadzor in the territory of the Republic of Crimea in conditions characteristic of a combined emergency situation character. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2023;2:153-159. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-2-153-159 (In Russian).
6. Grigorenko LV, Kruglikov VD, Mazrukho AB, Arkhangelskaya IV, Zubkova DA, Nepomnyashchaya NB, et al. Cholera vibrions nonO1/nonO139 isolated during monitoring of reservoirs and drains of Rostov-on-Don from 2009 to 2011. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2013;4:48-50. DOI: 10.21055/0370-1069-2013-4-48-50 (In Russian).
7. Menshikova EA, Titova SV, Vodopyanov SO, Meloyan MG, Selyanskaya NA, Kruglikov VD. Influence of temperature on the transition of *Vibrio cholerae* O1 El Tor from a biofilm to an uncultivated state. Bacteriology. 2024;9(2):8-13. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-2-8-13 (In Russian).
8. Mironova LV, Ponomareva AS, Basov EA, Fedotova IS, Hunkheeva ZYu, Fortunatova AV, et al. Evaluation of the effectiveness of detecting the genetic determinants of *Vibrio cholerae* in monitoring the vibrioflora of water bodies. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2021;3:89-97. DOI: 10.21055/0370-1069-2021-3-89-97 (In Russian).
9. Poleeva MV, Chemisova OS, Menshikova EA, Sagakyants MM, Kurbatova EM. Study of biofilms of *V. cholerae* strains on surfaces of biotic and abiotic substrates using MALDI-ToF mass spectrometry. Medical Bulletin of the South of Russia. 2020;11(2):94-101. DOI: 10.21886/2219-8075-2020-11-2-94-101 (In Russian).
10. Popova AYu, Amirzoda AA, Mironova LV, Gulmakhmadzoda ZG, Chumachkova EA, Senichkina AM, et al. Cooperation between the Russian Federation and the Republic of Tajikistan in the field of sanitary and epidemiological welfare: results of joint measures to prevent the import and spread of cholera in the territory of the Republic of Tajikistan in 2024 and prospects for cooperation. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2025;3:6-17. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-6-17 (In Russian).

Информация о соавторах:

Владимир Дмитриевич Кругликов, 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

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

Дуванова Ольга Викторовна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-1702-1620

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

Казьмина Виктория Сергеевна, лаборант отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0009-0007-0942-8918

Бодрая Полина Владимировна, младший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0009-0008-5271-444X

Шипко Елена Сергеевна, младший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-8517-2789

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

Зубкова Асмик Константиновна, младший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0009-0005-5942-6174

Сагакянц Маргарита Мардиросовна, научный сотрудник лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов», ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-8235-3288

Лычман Валентина Анатольевна, младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов», ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0009-0000-4119-5324

Information about co-authors:

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 Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-6540-2778

Elena A. Menshikova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-5814-2947

Olga V. Duvanova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-1702-1620

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

Victoria S. Kazmina, Laboratory Assistant at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0009-0007-0942-8918

Polina V. Bodraya, Junior Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0009-0008-5271-444X

Elena S. Shipko, Junior Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-8517-2789

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

Asmik K. Zubkova, Junior Researcher at the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0009-0005-5942-6174

Margarita M. Sagakyants, Researcher at the laboratory «Collection of Pathogenic Microorganisms», Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-8235-3288

Valentina A. Lychman, Junior Researcher at the laboratory «Collection of Pathogenic Microorganisms», Rostov-on-Don Plague Control Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0009-0000-4119-5324

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-57-64

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 57–64
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 57–64

Разработка панелей контрольных образцов для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры

М.В.Полеева, В.В.Агафонова, М.М.Сагакянц, В.Д.Кругликов, С.О.Водопьянов, В.А.Лычман, Е.Н.Гудуева

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

Обязательным условием надежной работы микробиологических лабораторий является внешний контроль качества (ВКК) лабораторных исследований. Одной из основных задач Референс-центра по мониторингу холеры является разработка контрольных панелей образцов и организация работ по ВКК лабораторных исследований на холеру в лабораториях Роспотребнадзора различных уровней. Кроме этого, необходимы анализ эффективности применяемых и новых наборов реагентов и тест-систем для диагностики, участие в организации тактико-специализированных учений команд быстрого реагирования специализированных противоэпидемических бригад и межведомственных учений с введением шифрованных проб. Процесс обучения специалистов на курсах переподготовки и повышения квалификации предусматривает решение ситуационных задач по выявлению возбудителя холеры и/или ДНК холерного вибриона в пробе.

Цель исследования. Разработка контрольных панелей образцов для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры.

Материалы и методы. В работе использовали коллекционные штаммы *Vibrio cholerae* O1, O139 и nonO1/nonO139, а также близкородственные виды – *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. alginolyticus*, *Aeromonas*, *Escherichia coli*. Подготовку штаммов для проведения исследований осуществляли в соответствии с действующими методическими документами.

Результаты. В формате контрольных панелей образцов для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры сформирована коллекция штаммов микроорганизмов с различными генетическими характеристиками, обладающих стабильными типичными морфологическими, культуральными, биохимическими, серологическими свойствами.

Заключение. Полученные образцы контрольных панелей могут быть использованы при проведении ВКК в лабораториях различного уровня, осуществляющих лабораторную диагностику холеры и других патогенных для человека вибрионов; в образовательной деятельности при проведении практических занятий и решения ситуационных задач по лабораторной диагностике холеры; в учебно-тренировочных учениях мобильных лабораторий быстрого реагирования; в межведомственных учениях по вводу условного больного и шифрованных проб. Предложенная коллекция штаммов микроорганизмов также может быть использована для изучения эффективности новых диагностических препаратов, внедряемых в лабораторную практику.

Ключевые слова: Vibrio cholerae, лабораторная диагностика холеры, внешний контроль качества, контрольная панель образцов, бактериологический метод, метод флуоресцирующих антител, полимеразная цепная реакция, лиофилизация

Для цитирования: Полеева М.В., Агафонова В.В., Сагакянц М.М., Кругликов В.Д., Водопьянов С.О., Лычман В.А., Гудуева Е.Н. Разработка панелей контрольных образцов для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры. Бактериология. 2026; 11(2): 57–64. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-57-64

Development of control sample panels for complex application in the practice of laboratory diagnostics of cholera

M.V.Poleeva, V.V.Agafonova, M.M.Sagakyants, V.D.Kruglikov, S.O.Vodopyanov, V.A.Lychman, E.N.Gudueva

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

An obligatory condition for the reliable operation of microbiological laboratories is external quality assurance (EQA) of laboratory tests. One of the main tasks of the Reference Center for Cholera Monitoring is design of control panels for samples and organization of work on laboratory testing for cholera inside laboratories of Rospotrebnadzor on different levels. In addition, it

Для корреспонденции:

Полеева Марина Владимировна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник-ученый секретарь, врио начальника отдела научного и учебно-методического обеспечения ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40
Телефон: (863) 240-9122
E-mail: poleeva_mv@antiplague.ru
ORCID: 0000-0001-8086-376X

Статья поступила 12.02.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Marina V. Poleeva, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher-Academic Secretary, Acting as a Head of the Scientifical Department, Educational and Methodological providing, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor

Address: 117/40 M.Gorky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation
Phone: (863) 240-9122
E-mail: poleeva_mv@antiplague.ru
ORCID: 0000-0001-8086-376X

The article was received 12.02.2026, accepted for publication 30.06.2026

is necessary to analyze the effectiveness of the used and new reagent kits and test systems for diagnosis, to participate in the organization of tactical and specialized exercises of the rapid reaction teams of the Specialized anti-epidemic teams of Rospotrebnadzor and interdepartmental exercises with the introduction of encrypted samples. The process of specialists training in refresher and advanced training courses involves solving situational tasks to identify the causative agent of cholera and/or *Vibrio cholerae* DNA in any sample.

Goal. To create control panels of samples for multiple application in the practice of laboratory cholera diagnosis.

Materials and methods. The collected strains of *V. cholerae*, O1, O139 and nonO1/nonO139, as well as closely related species, *V. parahaemolyticus*, *V. mimicus*, *V. alginolyticus*, *Aeromonas* and *Escherichia coli*, have been used in the study. The strains were prepared for research in accordance with the current methodological documents.

Results. A collection of strains of microorganisms with various genetic characteristics with stable typical morphological, cultural, biochemical, and serological properties has been formed in the format of control panels of samples for multiple usage in the practice of laboratory diagnostics of cholera.

Conclusion. The obtained samples of control panels can be used in conducting EQA in laboratories of different levels that conduct laboratory diagnostics of cholera and other pathogenic to humans vibrios; in educational activities when conducting practical exercises and solving situational problems in laboratory diagnostics of cholera; in training exercises of mobile rapid response laboratories; in interdepartmental exercises for the introduction of a conditional patient and encrypted samples. The proposed collection of microbial strains can also be used to study the effectiveness of new diagnostic drugs being introduced into laboratory practice.

Key words: Vibrio cholerae, laboratory diagnostics of cholera, external quality control, sample control panel, bacteriological method, fluorescent antibody method, PCR, lyophilization

For citation: Poleeva M.V., Agafonova V.V., Sagakyants M.M., Kruglikov V.D., Vodopyanov S.O., Lychman V.A., Gudueva E.N. Development of control sample panels for complex application in the practice of laboratory diagnostics of cholera. Bacteriology. 2026; 11(2): 57–64. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-57-64

В Российской Федерации (РФ) на базе учреждений Роспотребнадзора функционируют Центры индикации возбудителей инфекционных болезней I–II групп патогенности и обеспечения противоэпидемической готовности, а также Референс-центры по мониторингу возбудителей инфекционных и паразитарных болезней [1]. В соответствии с основными задачами эти подразделения, помимо индикации патогенных биологических агентов (ПБА) в клиническом материале и пробах из объектов окружающей среды (ООС) и проведения лабораторной диагностики опасных инфекционных болезней вызываемых ПБА в пробах исследуемого материала по соответствующей нозологии, принимают участие в анализе, освоении и внедрении в лабораторную практику современных методов и средств лабораторной диагностики опасных инфекционных болезней [2].

Рост инфекционных заболеваний, изменение структуры микрофлоры ООС, возникновение и распространение генетически измененных вариантов возбудителей требуют совершенствования подходов к организации микробиологической диагностики. Обязательным условием надежной работы микробиологических лабораторий является внешний контроль качества (ВКК) лабораторных исследований, основной целью которого является контроль со стороны уполномоченных учреждений за обеспечением надлежащего качества работы лабораторий по выделению и идентификации возбудителей заболеваний человека, обнаружению антигенов, антител, подтверждение точности и сопоставимости результатов исследований, безопасности работы с ПБА. Контроль качества лабораторного исследования – система необходимых мероприятий по контролю за качеством выполнения лабораторных исследований на всех этапах их осуществления [3].

Важно, что для каждого этапа работы – образовательной, исследовательской, испытательной, проверочной (контрольной) – необходимо применение стандартных панелей контрольных образцов, содержащих ПБА и/или их маркеры. В РФ существуют панели контрольных образцов для проведения межлабораторных сличительных испытаний в основной своей массе методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с целью обнаружения генетических маркеров различных инфекционных агентов [4, 5], для проведения обучения специалистов Роспотребнадзора по индикации ПБА, для внешней оценки качества лабораторных исследований на чуму [6], а также разработана панель контрольных образцов ДНК холерных вибрионов для проведения ВКК (с определением токсигенности штаммов) [7]. Панели контрольных образцов, используемые для ВКК, должны быть подтверждены и количественно охарактеризованы в лабораториях Референс-центров по мониторингу соответствующих возбудителей и сопровождаться инструкцией по их использованию в бактериологических (микробиологических) лабораториях территориального, регионального и федерального уровней [8].

ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора является Референс-центром по мониторингу холеры, в рамках деятельности которого осуществляется: исследование клинического материала, мониторинг водных ООС на наличие холерных вибрионов; идентификация выделенных штаммов, дифференциация и геномная характеристика поступающих культур вибрионов, изолированных от людей и из ООС на различных территориях РФ. Кроме этого, проводится анализ эффективности применяемых и новых наборов реагентов и тест-систем для диагностики холеры; организация тактико-специализированных учений команд быстрого реагирования специализированных противоэпидемических бригад (СПЭБ) и межведомственных учений с введением шифрованных проб. Процесс обучения специалистов на курсах переподготовки и повышения квалификации предусматривает решение ситуационных задач по выявлению возбудителя холеры и/или ДНК холерного вибриона в пробе.

На современном этапе микробиологическая диагностика вышла на качественно более высокий уровень. Внедряются перспективные, доступные и воспроизводимые методы, современное оборудование позволяет автоматизировать практически все этапы лабораторных исследований, регистрируются новые тест-системы. Наряду с этим возникают трудности, связанные с отсутствием способов управления

процессом лабораторной диагностики путем выявления и предотвращения возможных ошибок.

Одной из задач Референс-центра является организация работ по ВКК лабораторной диагностики холеры в учреждениях Роспотребнадзора территориального, регионального и федерального уровней [8, 9]. В целях проведения внешнего контроля готовности учреждений (лабораторий) к проведению специфической индикации патогенных агентов применяют пробы с имитаторами ПБА. Согласно методическим указаниям [10] в качестве имитаторов могут использоваться штаммы, которые обладают всеми признаками микроорганизмов II группы патогенности, но не имеют патогенных свойств, в связи с чем отнесены к III или IV группе (например, *V. cholerae* O1 нетоксигенный), либо вакцинные штаммы. Однако современная диагностика *V. cholerae* включает определение генов холерного токсина (*ctxAB*), токсин-корегулируемых пилей адгезии (*tcpA*), для которых требуется подготовка контрольных образцов из штаммов II группы патогенности с соблюдением требований СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней» [11].

Следовательно, является актуальной разработка контрольных панелей образцов для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры, в т.ч. для проведения ВКК лабораторных исследований, направленного на выявление систематических ошибок при использовании рекомендуемых методов и обеспечение единства качества проводимых измерений и их результатов на всей территории страны.

Цель исследования: разработка контрольных панелей образцов для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры.

Материалы и методы

В работе использовали коллекционные штаммы *V. cholerae* O1 с различными генетическими характеристиками (n = 30), *V. cholerae* O139 (n = 10) и *V. cholerae* nonO1/nonO139 (n = 20), а также близкородственные виды – *V. parahaemolyticus* (n = 5), *V. mimicus* (n = 3), *V. alginolyticus* (n = 3), *Aeromonas* (n = 3), обладающие различными генетическими характеристиками, и 3 штамма *Escherichia coli*. Штаммы хранились в лиофилизированном состоянии в лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора.

Для культивирования холерных вибрионов были использованы 2%-й агар Мартена и бульон Мартена (pH 7,7), 1%-я пептонная вода (pH 7,8); для парагемолитических вибрионов – 2%-й агар Мартена и бульон Мартена с 2% NaCl (pH 7,7), 1%-я пептонная вода с 2% NaCl (pH 7,8); для *E. coli* и бактерий рода *Aeromonas* – 2%-й агар Хоттингера (pH 7,6) и бульон Хоттингера (pH 7,6).

Подготовку штаммов для проведения исследований осуществляли в соответствии с действующими методическими документами [8, 9, 12, 13].

Идентификацию культур проводили методом флуоресцирующих антител (МФА) в сочетании с методом матрично-активированной лазерной десорбции/ионизации с времяпролетной масс-спектрометрией (Matrix-Assisted Lazer Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass-Spectrometry/MALDI-ToF MS) [14].

Молекулярно-генетические методы исследования проводили согласно указаниям [15]. Выделение ДНК и идентификацию штаммов *V. cholerae* в биологическом материале и ООС проводили методом ПЦР с использованием набора реагентов «АмплиСенс® *Vibrio cholerae*-FL» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва), предусматривающим экстракцию ДНК из проб с применением комплекта реагентов «ДНК-сорб-В» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва), согласно инструкции к набору реагентов. Результаты учитывали и интерпретировали в соответствии с методическими рекомендациями и инструкцией к набору реагентов «АмплиСенс® *Vibrio cholerae*-FL» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва).

Проверку разработанных панелей на специфическую стерильность проводили согласно инструкции [16]. Обеспечение биологической безопасности при работе со штаммами холерных вибрионов проводили в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями [11] и указаниями [10].

Результаты исследования и их обсуждение

Анализ нормативно-методических документов по организации лабораторной диагностики холеры позволил определить модельные системы для формирования контрольных панелей, которые применимы в практике диагностических лабораторий. Нашей задачей являлось создание трех контрольных панелей для идентификации холерного вибриона и его генетических маркеров: для бактериологического метода, МФА и выявления генетических детерминант в ПЦР.

На первом этапе работы для создания контрольных панелей из коллекции ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора были отобраны штаммы микроорганизмов, обладающие различными генетическими характеристиками, идентифицированные с применением масс-спектрометрического метода и охарактеризованные по основным признакам: подвижность, тип расщепления глюкозы, декарбоксилазная активность, ферментация углеводов и спиртов, гидролиз мочевины, образование индола, сероводорода, согласно актуальным на момент исследования методическим указаниям [9, 13]. Данная работа необходима, поскольку штаммы, из которых в дальнейшем формируются панели контрольных образцов для диагностики, должны обладать типичными и стабильными биологическими свойствами.

Основные требования, которые предъявлялись к штаммам:

1) хороший рост культур после лиофильного высушивания и хранения в коллекции; отсутствие антагонизма, поскольку планировалось создание микробных микст-смесей для бактериологического этапа работы лаборатории при выделении культуры холерного вибриона;

2) сохранение при переходе из лиофилизированного состояния основных культурально-морфологических и биохимических признаков, свойственных *V. cholerae*, отсутствие диссоциации культур штаммов;

3) полноценный антигенный состав клеточной стенки микробов, что позволяет определять возбудителя холеры в МФА;

Таблица 1. **Характеристика штаммов микроорганизмов, используемых для создания панелей контрольных образцов**
*Table 1. **Characteristics of the strains of microorganisms used to create control sample panels***

№ п/п / №	Вид и номер штамма / *Type and strain number*	Источник и место выделения / *Source and location of allocation*	Генетическая характеристика / *Genetic characteristics*
Штаммы *V. cholerae*, используемые для создания панели контрольных образцов для бактериологического этапа исследования / *V. cholerae strains used to create a panel of control samples for the bacteriological stage of the study*			
1	*V. cholerae* O1 El Tor Ogawa KM 2090	вода, р. Темерник, г. Ростов-на-Дону / *water, Temernik river, Rostov-on-Don*	*hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ ctxAB⁻tcpA⁻*
2	*V. cholerae* O1 El Tor Ogawa KM 2085	человек, г. Москва / *human, Moscow*	*hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ctxAB⁺tcpA⁺*
3	*V. cholerae* O1 El Tor Ogawa KM 2086	вода, пруд Заячий, г. Элиста, Республика Калмыкия / *water, Zayachy pond, Elista, Republic of Kalmykia*	*hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ ctxAB⁻tcpA⁺*
4	*V. cholerae* O1 El Tor Inaba 19432	вода, р. Темерник, г. Ростов-на-Дону / *water, Temernik river, Rostov-on-Don*	*hly⁺wbeT⁻wbfR⁻ ctxAB⁻tcpA⁻*
5	*V. cholerae* O1 El Tor Inaba 18807	человек, г. Ростов-на-Дону, п. Чистоозерный, Ростовская область / *human, Rostov-on-Don, village of Chistoozerny, Rostov region*	*hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ ctxAB⁻tcpA⁺*
6	*V. cholerae* O1 El Tor Inaba 1391	Индия / India	*hly⁺wbeT⁻wbfR⁻ ctxAB⁺tcpA⁺*
7	*V. cholerae* O139 KM 2089	вода, р. Дон, г. Ростов-на-Дону / *water, Don river, Rostov-on-Don*	*hly⁺wbeT⁻wbfR⁺ ctxAB⁻tcpA⁻*
8	*V. cholerae* nonO1/nonO139 KM 2091	человек, п. Дарьевка, Ростовская область / *human, Daryevka village, Rostov region*	*hly⁺wbeT⁻wbfR⁻ ctxAB⁻tcpA⁻*
9	*V. cholerae* nonO1/nonO139 16133	человек, Узбекистан / *human, Uzbekistan*	*hly⁺wbeT⁻wbfR⁻ ctxAB⁺tcpA⁺*
10	*V. parahaemolyticus* 13580 (ATCC 17802)	человек, Япония / *human, Japan*	*tdh⁻trh⁺*
11	*Aeromonas* KM 2092	Индия / *India*	-
12	*E. coli* 12605 (1015)	больной / *ill*	-
Штаммы *V. cholerae*, используемые для создания контрольных образцов для МФА / *V. cholerae strains used to create control samples for MFA*			
1	*V. cholerae* O1 El Tor Ogawa KM 2090	вода, р. Темерник, г. Ростов-на-Дону / *water, Temernik river, Rostov-on-Don*	*hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ ctxAB⁻tcpA⁻*
2	*V. cholerae* O139 KM 2089	вода, р. Дон, г. Ростов-на-Дону / *water, Don river, Rostov-on-Don*	*hly⁺wbeT⁻wbfR⁺ ctxAB⁻tcpA⁻*
3	*Aeromonas* KM 2092	Индия / *India*	-
Штаммы *V. cholerae*, используемые для создания панели обеззараженных контрольных образцов для ПЦР / *V. cholerae strains used to create a panel of disinfected control samples for PCR*			
1	*V. cholerae* O1 El Tor Ogawa KM 2085	человек, г. Москва / *human, Moscow*	*hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ ctxAB⁺tcpA⁺*
2	*V. cholerae* O1 El Tor Ogawa KM 2087	вода, р. Темерник, г. Ростов-на-Дону / *water, Temernik river, Rostov-on-Don*	*hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ ctxAB⁻tcpA⁻*
3	*V. cholerae* O1 El Tor Ogawa KM 2086	вода, пруд Заячий, г. Элиста, Республика Калмыкия / *water, Zayachy pond, Elista, Republic of Kalmykia*	*hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ ctxAB⁻tcpA⁺*
4	*V. cholerae* O139 KM 2088	человек, г. Азов, Ростовская область / *human, Azov, Rostov region*	*hly⁺wbeT⁻wbfR⁺ ctxAB⁺tcpA⁺*
5	*V. cholerae* nonO1/nonO139 KM 2091	человек, п. Дарьевка, Ростовская область / *human, Daryevka village, Rostov region*	*hly⁺wbeT⁻wbfR⁻ ctxAB⁻tcpA⁻*
6	*V. cholerae* nonO1/nonO139 16133	человек, Узбекистан / *human, Uzbekistan*	*hly⁺wbeT⁻wbfR⁻ ctxAB⁺tcpA⁺*
7	*V. parahaemolyticus* 13580 (ATCC 17802)	человек, Япония / *human, Japan*	*tdh⁻trh⁺*
8	*V. mimicus* 15843	морская вода, г. Красноводск, Туркменистан / *sea water, Krasnovodsk, Turkmenistan*	-
9	V. alginolyticus 16203	морская вода, г. Анапа, Краснодарский край / *sea water, Anapa, Krasnodar region*	-
10	*Aeromonas* KM 2092	Индия / *India*	-

4) представленность генов, определяющих принадлежность возбудителя к виду, серогруппе, а также генов, определяющих эпидемическую значимость штаммов при исследовании методом ПЦР.

Для работы были отобраны штаммы *V. cholerae* с различными генетическими характеристиками, идентифицированные методом масс-спектрометрии по белковому спектру до вида со значением показателя Score (Symptoms Causes Outcomes Resources Effects) не менее 3,5. Работы проводили в соответствии с МР 4.2.0089-14 [14].

Далее изучали культурально-морфологические, биохимические и серологические свойства штаммов. Для контрольных панельных образцов отбирали штаммы холерных вибрионов, которые агглютинировались до титра соответствующими холерными диагностическими сыворотками и в результатах исследования МФА давали специфическое свечение на 4+. Затем штаммы исследовали методом ПЦР. В результате были отобраны штаммы микроорганизмов, которые в дальнейшем вошли в состав трех панелей контрольных образцов: для постановки МФА, ПЦР и бактериологического метода набора реагентов «АмплиСенс® *Vibrio cholerae*-FL» для подтверждения видовой, определения серогрупповой принадлежности и эпидемической значимости, а также генов *hly*, *wbeT*, *wbfR*, *ctxAB*, *tcpA* (табл. 1).

Некоторые штаммы были депонированы в Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН «Российский

Таблица 2. **Варианты лиофилизированных контрольных образцов для контроля качества выполнения бактериологического метода исследования и МФА**
Table 2. ***Variants of lyophilized control samples for quality control of the bacteriological examination method and MFA***

№ п/п / *№*	Штаммы / *Strains*	Соотношение концентрации микробных клеток / *Microbial cell concentration*
1	*V. cholerae O1 hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ctxAB⁻tcpA⁻ : Aeromonas*	1:2
2	*V. cholerae O1 hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ctxAB⁻tcpA⁻ : Aeromonas*	1:10
3	*V. cholerae O1 hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ctxAB⁻tcpA⁻ : V. parahaemolyticus : Aeromonas*	1:1:10
4	*V. cholerae O1 hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ctxAB⁻tcpA⁻ : V. parahaemolyticus*	1:1
5	*V. cholerae O1 hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ctxAB⁻tcpA⁺ : Aeromonas*	1:10
6	*V. cholerae O139 hly⁺wbeT⁻wbfR⁺ctxAB⁻tcpA⁻ : Aeromonas*	1:10
7	*V. cholerae nonO1/nonO139 hly⁺wbeT⁻wbfR⁻ctxAB⁻tcpA⁻ : Aeromonas*	1:10
8	*V. cholerae O1 hly⁺wbeT⁺wbfR⁻ctxAB⁻tcpA⁻ : V. cholerae nonO1/nonO139 hly⁺wbeT⁻wbfR⁻ctxAB⁻tcpA*	1:1

противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора. Помимо штаммов холерных вибрионов, в состав контрольных образцов вошли близкородственные микроорганизмы для использования их при составлении вариантов ситуационных задач.

На следующем этапе работы необходимо было разработать с использованием отобранных штаммов микроорганизмов три панели контрольных образцов, предназначенных для проведения ВКК:

- контроль качества бактериологического метода исследования;
- контроль качества выполнения МФА;
- контроль качества проведения ПЦР на выявление генов *hly*, *wbeT*, *wbfR*, *ctxAB*, *tcpA*.

Золотым стандартом в идентификации возбудителя холеры остается бактериология, поэтому следующим этапом стояла задача разработки контрольной панели, включающей лиофилизированные штаммы холерных вибрионов и близкородственных микроорганизмов, в т.ч. конструирование микст-культур.

Для разработки контрольной панели, предназначенной для проведения ВКК бактериологического метода исследования, использовали лиофильно высушенные штаммы *V. cholerae*, *V. parahaemolyticus*, *Aeromonas*, *E. coli*, характеристика которых представлена в табл. 1.

Штаммы культивировали при 37°С в течение 16–18 ч на агаре Мартена (pH 7,7) (вибрионы) или на агаре Хоттингера (pH 7,6) (*Aeromonas*). Перед лиофилизацией проводили накопление бактериальной массы путем посева отобранных на плотной питательной среде типичных по морфологии колоний на соответствующую среду (60 мл), скошенную во флаконах. Через 24 ч бактериальную массу смывали 5 мл среды Файбича. Концентрация микробных клеток в смыве составляла ~10^{10} КОЕ/мл. Полученные таким образом взвеси штаммов разводили средой Файбича в 10, 100, 1000 и 10 000 раз и определяли количество КОЕ путем высева их на питательные среды с целью подбора оптимального разведения бактериальной взвеси для последующей лиофилизации. Лиофилизацию штаммов проводили в ампулах в объеме 0,2 мл на аппарате коллекторного типа.

Было установлено, что после лиофилизации разведение в 10^9–10^7 КОЕ в пробе при посеве на плотные питательные среды дает сплошной рост культуры, что не подходит для целей контроля диагностики, т.к. необходимо получить изолированные колонии штаммов. Поэтому для лиофилизации использовали разведение бактериальных взвесей до концентрации 10^6 КОЕ/мл (10^6 КОЕ в пробе).

Контрольные образцы для ВКК лиофильно высушивали, смешивая различные штаммы в вариантах и соотношениях, представленных в табл. 2.

После получения лиофилизированных смесей все штаммы были проверены на видовую принадлежность в соответствии с методическими указаниями [9, 14] и обладали типичными свойствами.

Для создания контрольных панелей – мазков штаммов на предметных стеклах, подготовленных для окрашивания иммуноглобулинами диагностическими холерными, флюоресцирующими О1, О139 для проведения внешнего контроля качества выполнения МФА с целью выявления и идентификации возбудителя холеры – использовали два штамма *V. cholerae* О1 и О139 серогрупп, в качестве отрицательного контроля – штамм *Aeromonas* spp., отобранные на первом этапе исследования.

Для приготовления мазков из суточных агаровых культур микроорганизмов готовили взвеси в стерильном растворе хлорида натрия 0,9% (pH 7,2–7,4) до концентрации $1{\cdot}10^9$ м.к./мл, стандартизированные по оптическому отраслевому стандарту мутности бактериальных взвесей, калиброванному в МЕ –5МЕ и с действующим сроком годности. Затем полученные взвеси разводили в соотношении 1:1 раствором хлорида натрия 0,9% до концентрации $5{\cdot}10^8$ м.к./мл. Мазки готовили на обезжиренных предметных стеклах по общепринятой методике [8]. Мазки на предметном стекле делали как можно более тонкими – по одному мазку из каждого объекта (всего три мазка на одном предметном стекле в двух повторностях).

Фиксацию высушенных на воздухе мазков проводили погружением в 96°-й этиловый спирт в течение 20 мин, после чего высушивали на воздухе. Интенсивность свечения штаммов *V. cholerae* О1 и *V. cholerae* О139 при окрашивании соответствующими сыворотками учитывали по четырехкрестовой системе. Высушенные мазки хранили при температурах +4°С и +30°С. Повторные исследования, проведенные через 30 дней хранения (предполагаемый срок доставки) при температурах +4°С, +30°С, показали идентичность результатов.

Таким образом, определено, что температура окружающей среды не влияет на качественные характеристики препарата и транспортировка образцов допускается в течение

30 дней в диапазоне температур от +4°С до +30°С. Далее приготовленные стекла с нанесенными вариантами культур различных штаммов включали в состав панелей контрольных образцов. Перед их направлением в лаборатории проводили проверку на специфическую стерильность [16].

Для формирования панели контроля молекулярно-генетических методов – ПЦР – использовали обеззараженные взвеси штаммов *V. cholerae* O1, O139, nonO1/nonO139, близкородственных видов вибрионов и *Aeromonas* spp., отобранных ранее (табл. 1).

С этой целью из суточных культур микроорганизмов готовили взвесь в физиологическом растворе с концентрацией $1 \cdot 10^9$ мк/мл, стандартизированную по оптическому отраслевому стандарту мутности (см. выше). Далее взвеси последовательно разводили до концентрации $1 \cdot 10^7$ м.к./мл и обеззараживали кипячением в течение 30 мин в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями [11]. Обеззараженные бактериальные взвеси *V. cholerae* в концентрации 10^7 м.к./мл вносили в микропробирки со средой Файбича таким образом, чтобы концентрация клеток в образцах составила $5 \cdot 10^5$ м.к./образец. Затем штативы с микропробирками загружали в камеру лиофильной установки. Лиофильное высушивание препаратов проводили в боксированном помещении, оборудованном автономной системой приточно-вытяжной вентиляции с механическим побуждением, оснащенной фильтрами тонкой очистки на притоке и вытяжке. Для лиофилизации препаратов *V. cholerae* использовали установку Alpha 1-4 LSC Martin Christ.

В результате проведения нескольких пробных лиофилизаций нами был подобран оптимальный цикл лиофилизации, который состоял из трех этапов:

- заморозка образцов штаммов *V. cholerae* в камере лиофильной установки до -60°С в течение 2 ч;
- основная сушка (main drying) – при глубине вакуума 0,1 мбар в течение 3 ч;
- заключительная сушка (final drying) – при давлении 0,001 мбар в течение 1 ч.

По окончании лиофилизации микропробирки закрывали; хранили при температуре +4°С и +25°С. Все полученные образцы проверяли высевом на специфическую стерильность согласно инструкции [15].

Все используемые образцы показали положительные результаты при постановке ПЦР на наличие соответствующих генов (*hly*, *wbeT*, *wbfR*, *ctxAB*, *tcpA*), в т.ч. и через 30 дней хранения при разных температурных режимах. Таким образом, допускается транспортировка образцов при температуре до +25°С в течение 30 дней.

После вскрытия ампул, предназначенных для контроля бактериологического метода исследования, и высева на плотную питательную среду (агар Мартена pH 7,7) наблюдалось наличие изолированных колоний микроорганизмов, которые отличались по плотности, размеру. Проведенная идентификация во всех случаях позволила выделить микроорганизмы рода *Vibrio* и дифференцировать их от других близкородственных видов и родов.

Использование МФА и ПЦР для выделенных культур также подтвердило их свойства, что свидетельствует о возможности использования панели лиофильно высушенных штаммов для контроля всех трех методов исследования. Таким образом, полученные образцы контрольных панелей могут быть использованы при проведении ВКК в лабораториях федерального, территориального и регионального уровня, осуществляющих лабораторную диагностику холеры и других патогенных для человека вибрионов.

Данная коллекция штаммов может быть использована в образовательной деятельности при проведении практических занятий и решения ситуационных задач по лабораторной диагностике холеры в рамках программ переподготовки и повышения квалификации специалистов лабораторного звена и СПЭБ, а также в учебно-тренировочных учениях мобильных лабораторий быстрого реагирования и в межведомственных учениях по вводу условного больного и шифрованных проб. Предложенная коллекция штаммов микроорганизмов также может использоваться для изучения эффективности новых диагностических препаратов, внедряемых в лабораторную практику в рамках выполнения задач референс-центра по мониторингу холеры.

Заключение

В формате контрольных панелей образцов для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры сформирована коллекция штаммов микроорганизмов, обладающих стабильными типичными морфологическими, культуральными, биохимическими, серологическими свойствами, с различными генетическими характеристиками.

Разработанная контрольная панель, предназначенная для проведения контроля бактериологического метода, включающая в себя лиофильно высушенные штаммы: *V. cholerae* O1 (6 штаммов), *V. cholerae* O139 (1 штамм), *V. cholerae* nonO1/nonO139 (2 штамма), *V. parahaemolyticus* (1 штамм), *Aeromonas* (1 штамм), *E. coli* (1 штамм), может быть использована для проведения ВКК не только бактериологического метода, но и выполнения МФА и ПЦР при лабораторной диагностике холеры. Данные микроорганизмы могут использоваться в различной комбинации.

Разработанная контрольная панель, предназначенная для проведения контроля качества выполнения МФА, включающая в себя два предметных стекла с нанесенными на них и зафиксированными мазками трех контрольных штаммов, относящихся к III группе патогенности: *V. cholerae* O1 El Tor (1 штамм); *V. cholerae* O139 (1 штамм); *Aeromonas* (1 штамм), может быть использована для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры в бактериологических (микробиологических) лабораториях территориального уровня, имеющих разрешение на работу с возбудителями инфекционных болезней III–IV и II–IV групп патогенности (опасности), и на региональном и федеральном уровнях – в бактериологических (микробиологических) лабораториях, имеющих разрешение на работу с возбудителями инфекционных болезней I–II групп патогенности (опасности), включая лаборатории Центров индикации на базе противочумных учреждений.

Разработанная в ходе работы контрольная панель, предназначенная для проведения ВКК выполнения ПЦР, включает в себя 10 контрольных образцов обеззараженных штаммов: *V. cholerae* O1 El Tor Ogawa (3 штамма); *V. cholerae* O139 (1 штамм); *V. cholerae* nonO1/nonO139 (2 штамма), *V. parahaemolyticus* (1 штамм), *V. mimicus* (1 штамм),

V. alghinolyticus (1 штамм), *Aeromonas* (1 штамм), с различными генетическими характеристиками, выделенных как из объектов окружающей среды, так и от человека, и может быть использована для комплексного применения в практике лабораторной диагностики холеры в бактериологических (микробиологических) лабораториях территориального уровня, имеющих разрешение на работу с возбудителями инфекционных болезней II–IV групп патогенности (опасности), а также в бактериологических (микробиологических) лабораториях регионального и федерального уровней, имеющих разрешение на работу с возбудителями инфекционных болезней I–II групп патогенности (опасности).

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding

No funding was received for conducting this study and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Полеева М.В. – сбор, анализ, обобщение данных литературы, проведение экспериментальных исследований, интерпретация результатов исследования, оформление текста рукописи; Агафонова В.В. – концепция работы, анализ результатов работы, редактирование, доработка текста; Сагакянц М.М. – проведение и систематизация экспериментальных исследований; Кругликов В.Д. – анализ результатов работы, редактирование, доработка текста; Водопьянов С.О. – проведение экспериментальных исследований, редактирование текста; Лычман В.А. – проведение экспериментальных исследований, сбор данных; Гудуева Е.Н. – проведение экспериментальных исследований.

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 contribution

Poleeva M.V. – collection, analysis, and synthesis of literature data; conduct of experimental studies; interpretation of research results; preparation of the manuscript text; Agafonova V.V. – conceptualization of the work; analysis of results; editing and refinement of the text; Sagakyants M.M. – conduct and systematization of experimental studies; Kruglikov V.D. – analysis of results; editing and refinement of the text; Vodopyanov S.O. – conduct of experimental studies; editing of the text; Lychman V.A. – conduct of experimental studies; data collection; Gudueva E.N. – conduct of experimental studies.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Приказ Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека от 01.12.2017 №1116 (с изменениями от 15.04.2024 №285; от 28.11.2024 №949).
2. Онищенко ГГ, Кузькин БП, Кутырев ВВ, Щербакова СА, Пакскина НД, Топорков АВ. Актуальные направления совершенствования лабораторной диагностики особо опасных инфекционных болезней. Проблемы особо опасных инфекций. 2009;1(99):5-10.
3. Яловега АВ, Николаев ИВ, Байкова АМ, Латыпов АЮ, Галеева ЕХ. Контроль качества проведения предварительных химико-токсикологических исследований в медицинских организациях Республики Башкортостан в 2023 г. Вестник Бурятского государственного университета. Медицина и фармация. 2023;2:58-64. DOI: 10.18101/2306-1995-2023-2-58-64
4. Романюк ТН, Шипулина ОЮ, Дмитрюкова МВ. Разработка панели образцов для контроля качества ВПЧ-тестирования на основе жидкостной технологии. Лабораторная служба. 2016;5(3):57.
5. Шипулина ОЮ, Куевда ДА, Ермакова НВ, Шишова АВ. Разработка панели контрольных образцов ДНК вирусов папилломы человека, ее валидация и тестирование в ВПЧ-тестах «АмплиСенс». Генодиагностика инфекционных болезней – 2007: сб. тр. VI Всероссийской научно-практической конференции. М., 2007;3:153-155.
6. Сеничкина АМ, Портенко СА, Шарова ИН, Корешкова ОА, Блинова КД, Осина НА, и др. Конструирование панелей шифрованных образцов для подготовки специалистов Роспотребнадзора и валидации новых методик в лабораториях. Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО. 2025;33(3):17-24.
7. Чемисова ОС, Водопьянов СО, Полеева МВ. Получение контрольных образцов для внешнего контроля качества лабораторной диагностики холеры. В кн.: Материалы X ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием: «Инфекционные болезни в современном мире: эволюция, текущие и будущие угрозы». М., 2018;248.
8. МУК 4.2.3746-22 «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня». Методические указания» (утв. Роспотребнадзором 12.05.2022).
9. МУК 4.2.3745-22 «Методы лабораторной диагностики холеры». Методические указания» (утв. Роспотребнадзором 12.05.2022).
10. МУ 4.2.1103-02 Приготовление проб с имитаторами патогенных биологических агентов: Методические указания. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2002.
11. СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней»: Санитарные правила и нормы (утв. Роспотребнадзором 28.01.2021).
12. МУ 3.3.2.2124-06 «Контроль диагностических питательных сред по биологическим показателям для возбудителей чумы, холеры, сибирской язвы, туляремии, бруцеллеза, легионеллез» (утв. Роспотребнадзором 17.08.2006).

13. МУК 4.2.3886-23 «Лабораторная диагностика заболеваний, вызываемых парагемолитическими и другими патогенными для человека вибрионами» (утв. Роспотребнадзором 28.06.2023).
14. МР 4.2.0089-14 «Использование метода времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-ToF MS) для индикации и идентификации возбудителей I–II групп патогенности» (утв. Роспотребнадзором 24.04.2014).
15. МУ 1.3.2569-09 «Организация работы лабораторий, использующих методы амплификации нуклеиновых кислот при работе с материалом, содержащим микроорганизмы I–IV группы патогенности» (утв. Роспотребнадзором 05.04.2009).
16. Инструкция по контролю специфической стерильности экспериментальных препаратов, приготовленных из культур чумного или холерного микробов (Саратов, 1982 г.).

References

1. Order of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing dated December 1, 2017, No 1116 (as amended on April 15, 2024, No 285; and November 28, 2024, No 949).
2. Onischenko GG, Kouzkin BP, Kutyrev VV, Scherbakova SA, Pakskina ND, Toporkov AV. Current trends of perfection of laboratory diagnostics of particularly dangerous infectious diseases. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2009;1(99):5-10. (In Russian).
3. Yalovega AV, Nikolaev IV, Baykova AM, Latypov AYu, Galeeva EKh. Quality control of preliminary chemical and toxicological studies in medical organizations of the Republic of Bashkortostan in 2023. Vestnik Buryatskogo gosudarstvennogo universiteta. Medicina i farmaciya. 2023;2:58-64. DOI: 10.18101/2306-1995-2023-2-58-64 (In Russian).
4. Romanyuk TN, Shipulina Olu, Dmitriyukova MB. The development of a panel of samples for quality control of HPV testing for liquid-based technology. Laboratornaya sluzhba. 2016;5(3):57. (In Russian).
5. Shipulina OYu, Kuevda DA, Ermakova NV, Shishova AV. Development of a panel of control DNA samples of human papilloma viruses, its validation and testing in HPV tests «AmpliSens». Genodiagnostika infekcionny`x boleznej – 2007: sbornik trudov VI Vserossijskoj nauchno-prakticheskoj konferencii. M., 2007;3:153-155. (In Russian).
6. Senichkina AM, Portenko SA, Sharova IN, Koreshkova OA, Blinova KD, Osina NA, et al. Development of coded sample panels for training of Rospotrebnadzor specialists and validation of new laboratory techniques. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya. 2025;33(3):17-24. DOI: 10.35627/2219-5238/2025-33-3-17-24 (In Russian).
7. Chemisova OS, Vodop'yanov SO, Poleeva MV. Poluchenie kontrol'nykh obraztsov dlya vneshnego kontrolya kachestva laboratornoi diagnostiki kholery. V kn.: Materialy X ezhegodnogo Vserossiiskogo Kongressa po infektsionnym boleznyam s mezhdunarodnym uchastiem: «Infektsionnye bolezni v sovremennom mire: evolyutsiya, tekushchie i budushchie ugrozy». M., 2018;248. (In Russian).
8. MUK 4.2.3746-22 «Organizatsiya i provedenie laboratornoi diagnostiki kholery v laboratoriyakh razlichnogo urovnya». Metodicheskie ukazaniya» (utv. Rospotrebnadzorom 12.05.2022). (In Russian).
9. MUK 4.2.3745-22 «Metody laboratornoi diagnostiki kholery». Metodicheskie ukazaniya» (utv. Rospotrebnadzorom 12.05.2022). (In Russian).
10. MU 4.2.1103-02 Prigotovlenie prob s imitatorami patogennykh biologicheskikh agentov: Metodicheskie ukazaniya. Moscow: Federal'nyi tsentr gossanepidnadzora Minzdrava Rossii, 2002. (In Russian).
11. SanPiN 3.3686-21 «Sanitarno-epidemiologicheskie trebovaniya po profilaktike infektsionnykh boleznei»: Sanitarnye pravila i normy (utv. Rospotrebnadzorom 28.01.2021). (In Russian).
12. MU 3.3.2.2124-06 «Kontrol' diagnosticheskikh pitatel'nykh sred po biologicheskim pokazatelyam dlya vozbuditelei chumy, kholery, sibirskoi yazvy, tulyaremii, brutselleza, legionellez» (utv. Rospotrebnadzorom 17.08.2006). (In Russian).
13. MUK 4.2.3886-23 «Laboratornaya diagnostika zabolevanii, vyzyvaemykh paragemoliticheskimi i drugimi patogennymi dlya cheloveka vibrionami» (utv. Rospotrebnadzorom 28.06.2023). (In Russian).
14. MR 4.2.0089-14 «Ispol'zovanie metoda vremyaproletnoi mass-spektrometrii s matrichno-aktivirovannoi lazernoi desorbtsiei/ionizatsiei (MALDI-ToF MS) dlya indikatsii i identifikatsii vozbuditelei I–II grupp patogennosti» (utv. Rospotrebnadzorom 24.04.2014). (In Russian).
15. MU 1.3.2569-09 «Organizatsiya raboty laboratorii, ispol'zuyushchikh metody amplifikatsii nukleinovykh kislot pri rabote s materialom, soderzhashchim mikroorganizmy I–IV gruppy patogennosti» (utv. Rospotrebnadzorom 05.04.2009). (In Russian).
16. Instruktsiya po kontrolyu spetsificheskoi steril'nosti eksperimental'nykh preparatov, prigotovlennykh iz kul'tur chumnogo ili kholernogo mikrobov (Saratov, 1982 g.). (In Russian).

Информация о соавторах:

Агафонова Виктория Владиславовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, и.о. заведующий лабораторией «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-5331-4255

Сагакянц Маргарита Мардиросовна, научный сотрудник лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-8235-3288

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

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

Лычман Валентина Анатольевна, младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0009-0000-4119-5324

Гудуева Елена Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция патогенных микроорганизмов» ФКУЗ «Ростовский-на-Дону противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-6114-9891

Information about co-authors:

Victoria V. Agafonova, PhD in Biological Sciences, Senior Research of the laboratory «Collections of pathogenic microorganisms», Acting as a Head of the laboratory of pathogenic microorganisms, Rostov-on-Don Anti-Plague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-5331-4255

Margarita M. Sagakyants, Researcher of the laboratory «Collection of pathogenic microorganisms», Rostov-on-Don Anti-Plague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-8235-3288

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

Sergey O. Vodopyanov, MD, PhD, DSc, Chief Researcher of the Department of Microbiology of Cholera and Other Acute Intestinal Infections, Rostov-on-Don Antiplague Scientific Researsh Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-4336-0439

Valentina A. Lychman, Junior Researcher of the laboratory «Collection of pathogenic microorganisms», Rostov-on-Don Anti-Plague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0009-0000-4119-5324

Elena N. Gudueva, Junior Researcher of the laboratory «Collection of pathogenic microorganisms», Rostov-on-Don Anti-Plague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-6114-9891

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-65-70

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 65–70
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 65–70

Применение методики оценки жизнеспособности клеток *Cronobacter sakazakii* с использованием моноазида пропидия и ПЦР в реальном времени

Ю.М.Маркова, А.С.Полянина, В.В.Стеценко, Ю.В.Смотрина, Н.Р.Ефимочкина, С.А.Шевелева

ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Российская Федерация

Бактерии *Cronobacter sakazakii* способны вызывать инфекцию у детей раннего возраста, особенно новорожденных и недоношенных, в ответ на потребление с пищей единичных клеток возбудителя. В силу устойчивости к повышению температуры среды и высыханию кронобактеры могут выживать в процессе переработки молочного и растительного сырья, в т.ч. в виде некультурабельных форм, и загрязнять таким образом сухие заменители грудного молока и продукты прикорма, которые признаны основным фактором передачи инфекции. Поэтому для контроля этих труднокультивируемых бактерий в сухих продуктах для детей раннего возраста и компонентах для их производства большое значение придается методам полимеразной цепной реакции (ПЦР), позволяющим с высокой специфичностью определять минорные количества ДНК патогена. Но необходимое здесь подтверждение жизнеспособности выявленного возбудителя путем бакпосева длительно и зачастую не эффективно из-за некультурабельности, а молекулярно-биологические методики для этих целей отсутствуют.

Цель. Оценить пригодность метода ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с дополнительной обработкой проб моноазидом пропидия перед экстракцией ДНК для определения жизнеспособности клеток кронобактеров.

Результаты. Проведены исследования по совершенствованию методов выявления возбудителя в продукте и дифференциации жизнеспособных форм патогена от инактивированных нагреванием клеток. Разработана методика на основе ПЦР-РВ с обработкой проб фотореактивным ДНК-связывающим красителем, позволяющая оценивать жизнеспособность клеток *Cronobacter* spp. по степени повреждения клеточных мембран. Методика предусматривает обработку обогащенного инокулята красителем моноазидом пропидия, фотоактивацию красителя световым воздействием, удаление несвязавшегося красителя центрифугированием при 10 тыс. g, экстракцию ДНК и проведение ПЦР-РВ с праймерами к участкам генов, специфичных для рода *Cronobacter* и вида *C. sakazakii*. Обработка красителем приводила к снижению сигнала флюоресценции и увеличению значений пороговых циклов (Cq) для нежизнеспособных клеток. Для живой культуры обработка красителем в диапазоне концентраций от 8 до 20 мкМ практически не влияла на значения пороговых циклов амплификации Cq.

Заключение. Методика может использоваться при идентификации факторов риска *Cronobacter* spp. на производстве для изучения эффективности воздействия параметров технологии и производственной санитарии, направленных на ингибирование кронобактеров в сухих детских продуктах и на объектах производственной среды и способствующих переходу бактериальных клеток в некультурабельное состояние, а также как альтернатива методу бакпосева по ГОСТ ISO 22964, для подтверждения результатов ПЦР при контроле безопасности продукции.

Ключевые слова: Cronobacter spp., жизнеспособность микроорганизмов, полимеразная цепна реакция, пропидия моноазид

Для цитирования: Маркова Ю.М., Полянина А.С., Стеценко В.В., Смотрина Ю.В., Ефимочкина Н.Р., Шевелева С.А. Применение методики оценки жизнеспособности клеток *Cronobacter sakazakii* с использованием моноазида пропидия и ПЦР в реальном времени. Бактериология. 2026; 11(2): 65–70. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-65-70

Application of a methodology for evaluating the viability of *Cronobacter sakazakii* cells using the monoazide propidium and real-time PCR

Yu.M.Markova, A.S.Polyanina, V.V.Stetsenko, Yu.V.Smotrina, N.R.Efimochkina, S.A.Sheveleva

Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russian Federation

Для корреспонденции:

Маркова Юлия Михайловна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»

Адрес: 109240, Москва, Устьинский пр., 2/14
Телефон: (495) 698-5383
ORCID: 0000-0002-2631-6412

Статья поступила 04.12.2025, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Yulia M. Markova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher of the Laboratory of Biosafety and Nutrimicrobiome Analysis Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety

Address: 2/14 Ustinsky passage, Moscow, 109240, Russian Federation
Phone: (495) 698-5383
ORCID: 0000-0002-2631-6412

The article was received 04.12.2025, accepted for publication 30.06.2026

Bacteria *Cronobacter sakazakii* can cause infections in infants, particularly newborns and preterm infants, often resulting from the consumption of even single cell with food. Due to their heat and desiccation resistance, *Cronobacter* species can survive processing of milk and plant-based ingredients, including in non-culturable forms, thereby contaminating powdered infant formula and complementary foods, recognized as the primary transmission factor for infection. Therefore, PCR methods are crucial for monitoring these hard-to-culture bacteria in dry products for infants and their components, allowing for highly specific detection of minute amounts of pathogen DNA. However, confirmation of the viability of the detected pathogen through culturing is often lengthy and inefficient due to non-culturability, and molecular biological techniques for this purpose are lacking.
Objective. To evaluate the suitability of real-time PCR with additional sample treatment using propidium monoazide (PMA) before DNA extraction for determining the viability of Cronobacter cells.
Results. Research was conducted to improve pathogen detection methods and differentiate viable pathogen forms from heat-inactivated cells. A methodology based on real-time PCR with sample treatment using a photoreactive DNA-binding dye, PMA, was developed. This allows for the assessment of *Cronobacter* spp. cell viability based on the degree of damage to cell membranes. The method involves treating enriched inoculum with PMA dye, followed by photoactivation; removal of unbound dye via centrifugation, DNA extraction, and real-time PCR using primers targeting genus-specific and *C. sakazakii* species-specific gene sequences. Treatment with the dye resulted in decreased fluorescence signal and increased threshold cycle (Cq) values for non-viable cells. For live cultures, treatment with PMA in a concentration range of 8 to 20 μM had little to no effect on the amplification Cq values.
Conclusion. This methodology can be used to identify Cronobacter spp. risk factors during production and study the effectiveness of technological parameters and hygiene practices aimed at inhibiting Cronobacter in dry infant products and manufacturing environments. It promotes bacterial cell transition to non-culturable states, potentially serving as an alternative to the plating method according to ISO 22964 for confirming PCR results when monitoring product safety.
Key words: Cronobacter spp., microbial viability, PCR, propidium monoazide

For citation: Markova Yu.M., Polyanina A.S., Stetsenko V.V., Smotrina Yu.V., Efimochkina N.R., Sheveleva S.A. Application of a methodology for evaluating the viability of *Cronobacter sakazakii* cells using the monoazide propidium and real-time PCR. Bacteriology. 2026; 11(2): 65–70. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-65-70

Обеспечение безопасности пищевых продуктов, предназначенных для уязвимых категорий населения, особенно детей раннего возраста, является одним из приоритетных направлений для сохранения здоровья населения страны. К числу мало изученных, но опасных возбудителей инфекций у детей раннего возраста с пищевым путем передачи относятся бактерии рода *Cronobacter sakazakii* (ранее – *Enterobacter sakazakii*). Данный возбудитель является эмерджентным патогеном и вызывает редкие, но тяжелые и жизнеугрожающие заболевания (менингит, некротизирующий энтероколит, сепсис) у младенцев. Эпидемиологически доказана связь таких заболеваний с сухими заменителями грудного молока и продуктами прикорма.

Технологические приемы, применяемые при производстве сухих продуктов для детского питания, такие как сушка, пастеризация, использование дезинфектантов, могут способствовать переходу клеток *C. sakazakii* в некультивируемое состояние (viable but nonculturable/VBNC), при котором микроорганизмы не растут на питательных средах и, соответственно, не могут быть обнаружены традиционными культуральными методами. При этом клетки в таком состоянии остаются жизнеспособными, сохраняя клеточную целостность и патогенный потенциал, а попадая в определенные условия, могут восстанавливать способность к размножению [1, 2]. Показано, что VBNC *C. sakazakii* индуцировали воспаление кишечника у новорожденных крыс, хотя степень воспаления была значительно ниже, чем у культивируемых клеток, вследствие снижения выработки эндотоксина, подвижности, адгезии и способности к инвазии. Однако присутствие VBNC *C. sakazakii* в макрофагах было в 4,7 раза выше в сравнении с культивируемыми формами возбудителя. Предполагается, что *C. sakazakii* в VBNC-форме могут уклоняться от системы иммунной защиты хозяина, проникать в кровоток, печень и селезенку через макрофаги [1].

Используемые в настоящее время методики ДНК-диагностики *Cronobacter* spp. ориентированы на подтверждение видовой принадлежности и субвидовое типирование возбудителя, включая выявление генов, кодирующих проявление вирулентных свойств штаммов и обуславливающих этиологическую роль патогена в возникновении инвазивных инфекций.

Для детекции некультивируемых форм *Cronobacter* spp. возможно использование молекулярно-генетических методов, основанных на амплификации участков ДНК, таких как полимеразная цепная реакция (ПЦР) и изотермическая петлевая амплификация (LAMP).

Метод ПЦР позволяет детектировать как живые бактерии, включая находящиеся в некультурабельном состоянии, так и нежизнеспособные (мертвые) клетки, структура которых нарушена в процессе микробицидного воздействия технологии и которые не представляют опасности. Однако в классическом виде видоспецифическая ПЦР и другие варианты ПЦР-анализа не позволяют дифференцировать сигнал флюоресценции от живых, мертвых или некультивируемых клеток. Это обстоятельство в т.ч. может приводить к гипердиагностике в процессе контроля качества и безопасности детских смесей.

При этом для оценки эффективности различных профилактических мероприятий в отношении данного возбудителя, например при подборе дезинфицирующих средств и режимов обработки, важно определять степень жизнеспособности кронобактеров.

Избирательное обнаружение только жизнеспособных форм микроорганизмов молекулярно-генетическими методами возможно путем обработки проб специальными фотореактивными ДНК-связывающими красителями перед процедурой выделения ДНК. Примером таких красителей является моноазид пропидия, проникающий через поврежденную мембрану мертвых бактериальных клеток и способный под воздействием света необратимо связываться с двухцепочечной ДНК, приводя к невозможности последующей амплификации [3]. Такой подход позволяет оценивать жиз-

неспособность клеток по степени повреждения клеточных мембран без использования дорогостоящего высокотехнологичного оборудования.

Методики определения жизнеспособности патогенных микроорганизмов являются востребованными для оценки влияния различных факторов технологии на бактериальные клетки и контроля эффективности мер воздействия в критических контрольных точках технологического процесса. Такие методики также могут быть использованы для интерпретации результатов контроля контаминации продуктов и объектов производственной среды возбудителями пищевых токсикоинфекций при использовании методов выявления патогенов на основе ПЦР в соответствии с действующими нормативами [4].

Целью исследования являлась оценка пригодности метода ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ) с включением дополнительного этапа пробоподготовки перед процедурой экстракции ДНК (инкубация пробы красителем моноазидом пропидия) для определения жизнеспособности клеток кронобактеров.

Методика исследования

В работе использовали штамм *C. sakazakii*, выделенный из образца сухой молочной адаптированной смеси традиционного состава для питания детей с рождения отечественного производства. Культуру выращивали в триптон-глюкозном бульоне с дрожжевым экстрактом (HiMedia, Индия) в течение 18–24 ч при 37°C. Для получения суспензии мертвых клеток часть инокулята выдерживали на кипящей водяной бане в течение 20 мин, что достаточно для полной инактивации культивируемых клеток [5–7]. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ/мл) определяли путем высева десятикратных разведений инокулята в стерильном 0,85%-м физрастворе на поверхность чашек с триптон-соевым агаром (HiMedia, Индия). Для последующего тестирования использовали культуры с изначальной концентрацией C. sakazakii на уровнях 8,9 и 7,0 lg КОЕ/мл. Было установлено, что в пробах, подвергшихся температурной обработке, культивируемые клетки отсутствовали в 0,1 мл инокулята (<10 КОЕ/мл).

Суспензии с обработанной и необработанной культурой переносили по 100 мкл в стерильные микропробирки объемом 1,5 мл. В боксе без яркого освещения к пробам добавляли разные объемы моноазида пропидия PMAxx™ Dye (Biotium, США, Китай) для получения конечной концентрации в смеси 8, 10, 12, 16 и 20 мкМ, совместно с усиливающим реагентом для грамотрицательных микроорганизмов «PMA Enhancer for Gram Negative Bacteria, 5X» (Biotium) или без него, а также стерильный 0,85%-й физраствор для получения общего объема 500 мкл. Пробы с красителем перемешивали на вортексе, инкубировали в темноте 10 мин при комнатной температуре и постоянном перемешивании для того, чтобы обеспечить проникновение красителя через поврежденные клеточные мембраны. Для фотоактивации красителя пробы подвергали световому воздействию (λ = 450 нм, плотность потока излучения 247 мВт/м^2) в течение 15 мин с периодическим перемешиванием. Несвязавшийся краситель удаляли центрифугированием при 10 тыс. g и промывкой стерильным физраствором. Далее из проб, подвергшихся и не подвергшихся обработке красителем, выделяли ДНК с использованием набора «Рибо-преп» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора). Также ДНК выделяли из десятикратных разведений культуры для построения стандартной кривой.

Проводили ПЦР-РВ с праймерами к участкам различных генов, специфичных для рода Cronobacter и вида C. sakazakii. Реакционная смесь для ПЦР включала 17 мкл воды без нуклеаз («Евроген»), 5 мкл готовой смеси для ПЦР («Евроген»), прямой и обратный праймеры до концентрации 0,2–0,4 мкМоль (таблица) и 1 мкл экстракта ДНК. Температурная программа включала первичную денатурацию при 95°C в течение 5 мин, 40 циклов амплификации (95°C – 30 с, температура отжига (таблица) – 30 с, 72°C – 30 с), финальную элонгацию при 72°C в течение 5 мин и анализ кривых плавления. Термоциклирование, регистрацию флюоресценции (при 72°C) проводили на приборе LightCycler 96 (Roche, Австрия), реакции ставили в трех повторностях. Определяли значения пороговых циклов Cq (quantification cycle, количество циклов реакции амплификации, на котором флуоресценция превышает уровень фонового сигнала или достигает установленного порога для количественного определения) с использованием программного обеспечения LightCycler® 96 (Version 1.1.0.1320). Результат ПЦР расценивали как положительный, если зна-

Таблица. **Родо- и видоспецифичные праймеры для бактерий рода *Cronobacter* и вида *C. sakazakii***
*Table. **Genus- and species-specific primers for bacteria of the genus Cronobacter and the species C. sakazakii***

Специфичность *Specificity*	Целевой ген *Target gene*	Последовательность 5′→3′	Концентрация праймера, мкМ *Primer concentration, μM*	Температура отжига, °C *Annealing temperature, °C*	Размер ампликона, п.о. *Amplicon size, bp*	Ссылка *Reference*
Cronobacter spp.	*ygcB*	GCTTACCGCCAGCATGGT	0,2	60	228	[5]
		ACTTCCACCATGACGTCTTT				
C. sakazakii	*nanK*	GTACTGGCGATAGACATAGGTGG	0,3	59	525	[5]
		GATAGCCTCCACACACCCTG				
C. sakazakii	*ESA_02797*	GGCAGCATGTCATTATCGG	0,25	57	152	[8]
		CATCAGTGGCATTCGGTCTA				
C. sakazakii	*fimG*	GTTACTGCTGCTGATAATGT	0,4	58	495	[9]
		TAAGTAAACGTCACCTGTAC				

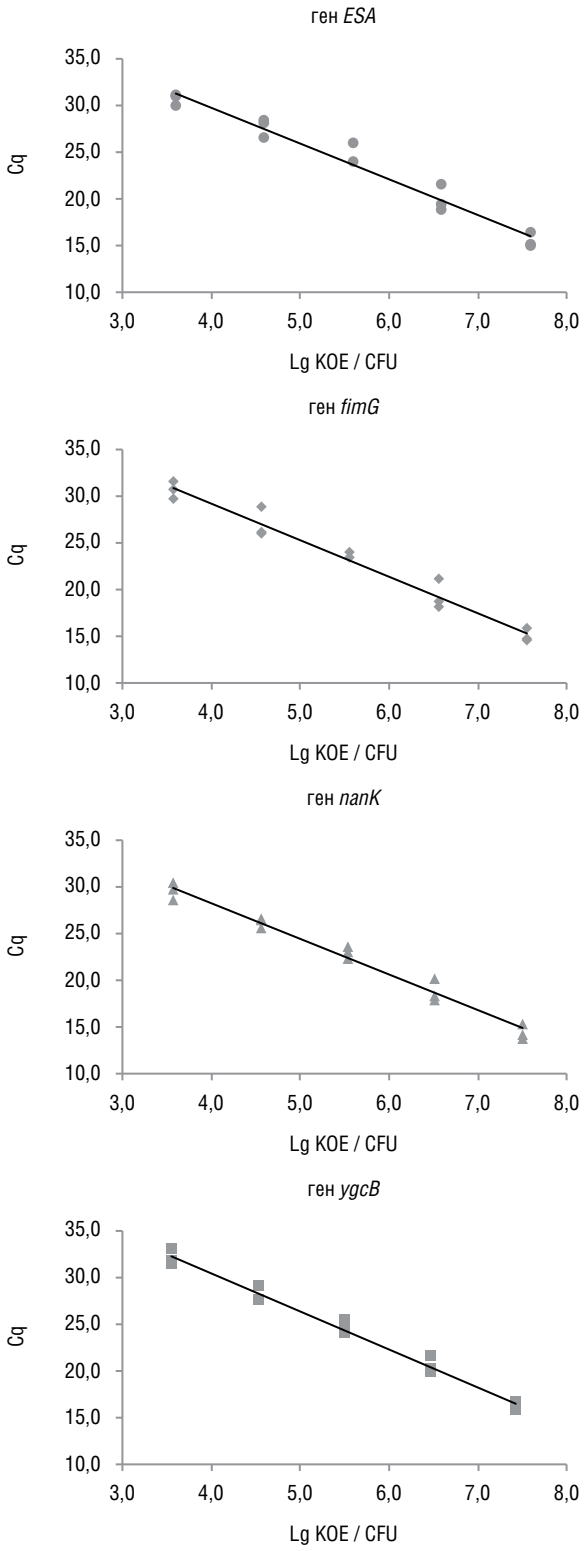


Рис. 1. **Калибровочные кривые для расчета концентрации жизнеспособных *C. sakazakii*.**
Fig. 1. ***Calibration curves for calculating the concentration of viable C. sakazakii.***

чение Cq не превышало 35 при наличии специфичного продукта амплификации по характеристике кривых плавления.

По значениям Cq для десятикратных разведений жизнеспособной культуры строили калибровочные кривые (рис. 1), с помощью которых рассчитывали ориентировочное содержание жизнеспособных клеток в экспериментальных про-

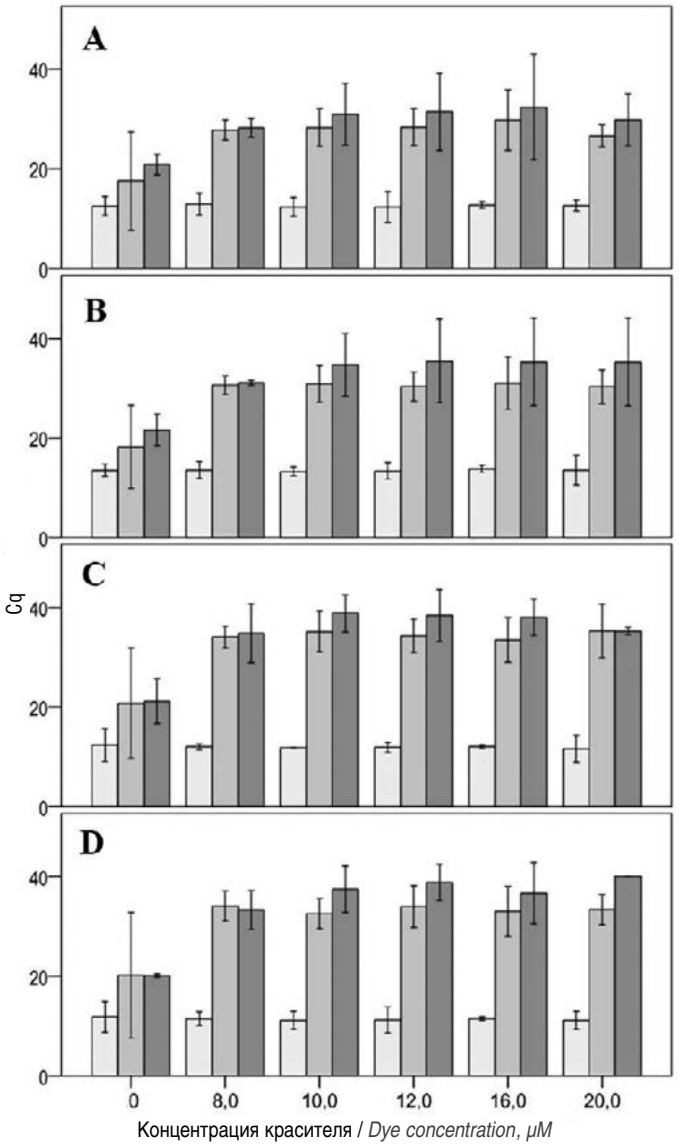


Рис. 2. **Значения пороговых циклов (Cq) при ПЦР-тестировании проб, обработанных с использованием моноазида пропидия: A – ампликон 152 п.о., B – ампликон 228 п.о., C – ампликон 495 п.о., D – ампликон 525 п.о.; n – живая культура (8,9 lg KOE); *n* – нежизнеспособная культура (8,9 lg KOE); n – нежизнеспособная культура (7,0 lg KOE).**
Fig. 2. ***Threshold cycle values (Cq) in PCR testing of samples treated with propidium monoazide: A – amplicon 152 bp, B – amplicon 228 bp; C – amplicon 495 bp, D – amplicon 525 bp; n – live culture (8.9 lg CFU); n – non-viable culture (8.9 lg CFU); n – non-viable culture (7.0 lg CFU).***

бах, подвергшихся термической обработке и инкубации с моноазидом пропидия.

Результаты исследования

Было установлено, что для живой культуры *C. sakazakii* с концентрацией клеток 8,9 lg KOE/мл обработка проб красителем в диапазоне концентраций от 8 до 20 мкМ перед экстракцией ДНК практически не влияла на значения Cq в последующей ПЦР (рис. 2). При этом ПЦР-анализ с использованными в данном исследовании родо- и видоспецифичными праймерами позволял выявлять ДНК инактивированных термическим воздействием клеток *C. sakazakii*.

Так, при выделении ДНК из нежизнеспособных клеток без использования красителя в ПЦР регистрировалось нарастание флюоресценции. При этом для термически инактивированной культуры с изначальной концентрацией клеток 8,9 lg КОЕ/мл значения пороговых циклов Cq находились в диапазоне от 17,5 до 20,8, в зависимости от используемых праймеров, и в среднем соответствовали концентрации 6,7 lg КОЕ/мл.

Обработка проб с использованием моноазида пропидия приводила к снижению сигнала флюоресценции и увеличению значений пороговых циклов для нежизнеспособных клеток (в зависимости от концентрации красителя и используемых праймеров значения Cq составляли в среднем от 28,2 до 34,4). При этом на эффективность данного снижения значимо влияла длина ампликона. Так, при использовании концентрации красителя >10 мкМоль, при последующей ПЦР с праймерами, у которых размер целевого продукта превышал 400 п.о, значения Cq либо не детектировались совсем, либо превышали порог определения методики (значения Cq >35, что соответствует содержанию C. sakazakii <3 lg КОЕ/мл пробы/инокулята).

Заключение

Подтверждена возможность дифференциации жизнеспособных и нежизнеспособных бактериальных клеток методом ПЦР-РВ с использованием ДНК-связывающего красителя пропидия моноазида в концентрации 12 мкМоль.

Апробированная методика может использоваться при определении факторов, способствующих переходу бактериальных клеток в жизнеспособное, но некультурабельное состояние, при котором не происходит повреждения клеточных мембран [7], а также при изучении устойчивости микроорганизмов к технологическим факторам, таким как сушка, пастеризация, воздействие дезинфектантов. Помимо этого, внедрение методик на основе ПЦР с обработкой проб фотореактивными ДНК-связывающими красителями в стандартную процедуру испытаний продукции для детского питания по ГОСТ ISO 22964 позволит обеспечить выявление некультурабельных форм патогенных *C. sakazakii* с четким подтверждением их жизнеспособности.

Источники финансирования

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда №23-16-00163, https://rscf.ru/project/23-16-00163/

Funding

The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No 23-16-00163, https://rscf.ru/project/23-16-00163

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

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 this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Zhou A, Wang L, Zhang J, Yang X, Ou Z, Zhao L. Survival of viable but nonculturable *Cronobacter sakazakii* in macrophages contributes to infections. Microb Pathog. 2021 Sep;158:105064. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.105064
2. Liu Y, Zhang J, Zhao H, Zhong F, Li J, Zhao L. VBNC *Cronobacter sakazakii* survives in macrophages by resisting oxidative stress and evading recognition by macrophages. BMC Microbiol. 2024 Nov 6;24(1):458. DOI: 10.1186/s12866-024-03595-9
3. Баймиев АнХ, Баймиев АлХ, Кулуев БР, Швец КЮ, Ямиданов РС, Матниязов РТ, и др. Современные подходы к дифференциации живых и мертвых бактерий с помощью избирательной амплификации нуклеиновых кислот. Микробиология. 2020;89(1):17-33. DOI: 10.31857/S0026365620010036
4. ГОСТ Р 57989-2017 Продукция пищевая специализированная. Методы выявления патогенных микроорганизмов на основе полимеразной цепной реакции. М.: Стандартинформ, 2018.
5. Gao S, Sun C, Hong H, Gooneratne R, Mutukumira A, Wu X. Rapid detection of viable *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula using improved propidium monoazide (PMAxx) and quantitative recombinase polymerase amplification (qRPA) assay. Food Control. 2021;124:107899. DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.107899
6. Xinrui Lv, Xiaokui Gu, Li Wang, Xiaoxin He, Chunai He, Jingfeng Zhang, et al. Rapid and absolute quantification of VBNC Cronobacter sakazakii by PMAxx combined with single intact cell droplet digital PCR in infant foods. LWT. 2021;145:111388. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111388
7. Hu L, Zhang S, Xue Y, Zhang Y, Zhang W, Wang S. Quantitative Detection of Viable but Nonculturable *Cronobacter sakazakii* Using Photosensitive Nucleic Acid Dye PMA Combined with Isothermal Amplification LAMP in Raw Milk. Foods. 2022 Sep 1;11(17):2653. DOI: 10.3390/foods11172653
8. Qiming C, Tingting T, Xiaomei B, Yingjian L, Fengxia L, Ligong Z, et al. Mining for sensitive and reliable species-specific primers for PCR for detection of *Cronobacter*

sakazakii by a bioinformatics approach. J Dairy Sci. 2015 Aug;98(8):5091-101. DOI: 10.3168/jds.2015-9304
9. Shang Y, Ye Q, Wu Q, Pang R, Zhou B, Wang C, et al. PCR and multiplex PCR assays for the detection of *Cronobacter* species using specific targets obtained by a bioinformatics approach. Food Control. 2021;125(6). DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.107896

References

1. Zhou A, Wang L, Zhang J, Yang X, Ou Z, Zhao L. Survival of viable but nonculturable *Cronobacter sakazakii* in macrophages contributes to infections. Microb Pathog. 2021 Sep;158:105064. DOI: 10.1016/j.micpath.2021.105064
2. Liu Y, Zhang J, Zhao H, Zhong F, Li J, Zhao L. VBNC *Cronobacter sakazakii* survives in macrophages by resisting oxidative stress and evading recognition by macrophages. BMC Microbiol. 2024 Nov 6;24(1):458. DOI: 10.1186/s12866-024-03595-9
3. Baymiev AnKh, Baymiev AkKh, Kuluev BR, Shvets KYu, Yamidanov RS, Matniyazov RT, et al. Modern approaches to differentiation between living and dead bacteria by selective amplification of nucleic acids. Microbiology. 2020;89(1):17-33. DOI: 10.31857/S0026365620010036 (In Russian).
4. GOST R 57989-2017 Produktsiya pishchevaya spetsializirovannaya. Metody vyyavleniya patogennykh mikroorganizmov na osnove polimeraznoi tsepnoi reaktsii. M.: Standartinform, 2018. (In Russian).
5. Gao S, Sun C, Hong H, Gooneratne R, Mutukumira A, Wu X. Rapid detection of viable *Cronobacter sakazakii* in powdered infant formula using improved propidium monoazide (PMAxx) and quantitative recombinase polymerase amplification (qRPA) assay. Food Control. 2021;124:107899. DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.107899
6. Xinrui Lv, Xiaokui Gu, Li Wang, Xiaoxin He, Chunai He, Jingfeng Zhang, et al. Rapid and absolute quantification of VBNC *Cronobacter sakazakii* by PMAxx combined with single intact cell droplet digital PCR in infant foods. LWT. 2021;145:111388. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111388
7. Hu L, Zhang S, Xue Y, Zhang Y, Zhang W, Wang S. Quantitative Detection of Viable but Nonculturable *Cronobacter sakazakii* Using Photosensitive Nucleic Acid Dye PMA Combined with Isothermal Amplification LAMP in Raw Milk. Foods. 2022 Sep 1;11(17):2653. DOI: 10.3390/foods11172653
8. Qiming C, Tingting T, Xiaomei B, Yingjian L, Fengxia L, Ligong Z, et al. Mining for sensitive and reliable species-specific primers for PCR for detection of *Cronobacter sakazakii* by a bioinformatics approach. J Dairy Sci. 2015 Aug;98(8):5091-101. DOI: 10.3168/jds.2015-9304
9. Shang Y, Ye Q, Wu Q, Pang R, Zhou B, Wang C, et al. PCR and multiplex PCR assays for the detection of *Cronobacter* species using specific targets obtained by a bioinformatics approach. Food Control. 2021;125(6). DOI: 10.1016/j.foodcont.2021.107896

Информация о соавторах:

Полянина Анна Сергеевна, младший научный сотрудник ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»
ORCID: 0000-0002-2766-7716

Стеценко Валентина Валерьевна, научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»
ORCID: 0000-0001-6470-171X

Смотрина Юлия Владимировна, младший научный сотрудник лаборатории биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»
ORCID: 0000-0001-8842-0525

Ефимочкина Наталья Рамазановна, доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе, ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»
ORCID: 0000-0002-9071-0326

Шевелева Светлана Анатольевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией биобезопасности и анализа нутримикробиома ФГБУН «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи»
ORCID: 0000-0001-5647-9709

Information about co-authors:

Anna S. Polyanina, Junior Researcher Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety
ORCID: 0000-0002-2766-7716

Valentina V. Stetsenko, Researcher at the Laboratory of Biosafety and Nutrimicrobiome Analysis Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety
ORCID: 0000-0001-6470-171X

Yulia V. Smotrina, Junior Researcher Researcher at the Laboratory of Biosafety and Nutrimicrobiome Analysis Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety
ORCID: 0000-0001-8842-0525

Natal'ya R. Efimochkina, PhD, DSc (Biological Sciences), Deputy Director for Scientific Work, Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety
ORCID: 0000-0002-9071-0326

Svetlana A. Sheveleva, MD, PhD, DSc, Head of the Biosafety and Nutrimicrobiome Analysis Laboratory Federal Research Centre of Nutrition, Biotechnology and Food Safety
ORCID: 0000-0001-5647-9709

НОВОСТИ НАУКИ

О холере

Седьмая пандемия холеры, вызванная штаммом El Tor *Vibrio cholerae*, ранее была показана как распространяющаяся тремя глобальными волнами из Бенгальского залива на границе Бангладеш и Индии.

Геномное исследование показывает, что бактерии *V. cholerae* в Южной Азии вовлечены в эволюционную гонку вооружений с бактериофагом ICP1. Исследование демонстрирует, что хотя эти бактерии быстро вырабатывают защиту для выживания при вирусных атаках, ее поддержание снижает тяжесть заболевания у людей и ограничивает способность бактерий распространяться по всему миру. Кроме того, исследование определяет бассейн Ганга – а не только дельту – как основной источник холеры и делает вывод, что перемещения людей и плотность населения являются более значимыми факторами передачи, чем естественные водные пути. Предполагается, что геномный мониторинг может способствовать созданию систем раннего оповещения для выявления высокорискованных штаммов и может привести к новым методам лечения путем использования вирусных взаимодействий для контроля вспышек заболеваний.

Barton A, Afrad MH, Taylor-Brown A, Singh N, Thakur C, Islam T, et al. Evolution of pandemic cholera at its global source. Nature. 2026 May;653(8114):491-498. DOI: 10.1038/s41586-026-10340-x

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-71-76

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 71–76
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 71–76

Фенотипическая характеристика штамма возбудителя мелиоидоза, впервые выделенного в России

С.И.Жукова, Н.Г.Плеханова, И.А.Хабарова, П.Р.Чирсков, А.Ю.Замарина, И.Б.Захарова, А.В.Топорков

ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора, Волгоград, Российская Федерация

Мелиоидоз – тяжелое инфекционное заболевание с высокой летальностью, вызываемое сапрофитической бактерией *Burkholderia pseudomallei*, обитающей во влажных почвах эндемичных регионов мира. В России в 2024 г. зарегистрирован первый случай заносного острого мелиоидоза у девочки-туристки, вернувшейся из Таиланда.

Цель. Изучение вирулентных, морфологических, биохимических свойств и чувствительности к антибактериальным препаратам штамма *B. pseudomallei* И-16, выделенного из секционного материала.

Материалы и методы. Морфологию колоний *B. pseudomallei* И-16 изучали после высева на триптиказосоевый агар и среду Эшдауна и инкубации 72 ч при 37°С. Антибиотикочувствительность определяли диско-диффузионным методом. Для определения показателя вирулентности штамм *B. pseudomallei* И-16 вводили внутрибрюшинно мышам (нелинейным и BALB/c) и золотистым хомячкам, через 30 суток вычисляли $ЛД_{50}$ по Керберу и показатель средней продолжительности жизни. Патологоанатомические изменения в легких, печени и селезенке биопроб оценивали визуально.

Результаты. Показано, что штамм *B. pseudomallei* И-16 имеет типичную морфологию колоний на питательных средах и стандартную для патогенных буркхольдерий биохимическую активность. Возбудитель проявил чувствительность к 4 из 7 протестированных антибактериальных препаратов. Исследованный штамм обнаружил высокую вирулентность для экспериментальных моделей ($ЛД_{50}$ – 10^1–10^2 м.к.) и вызывал у животных кровоизлияния в легких и множественные гнойно-некротические очаги в печени и селезенке.

Заключение. Острое септическое течение мелиоидозной инфекции с летальным исходом, вероятнее всего, обусловлено высоким уровнем вирулентности штамма *B. pseudomallei* И-16.

Ключевые слова: Burkholderia pseudomallei, мелиоидоз, случай мелиоидоза в России, вирулентность, чувствительность к антибиотикам

Для цитирования: Жукова С.И., Плеханова Н.Г., Хабарова И.А., Чирсков П.Р., Замарина А.Ю., Захарова И.Б., Топорков А.В. Фенотипическая характеристика штамма возбудителя мелиоидоза, впервые выделенного в России. Бактериология. 2026; 11(2): 71–76. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-71-76

Phenotypic characteristics of the *Burkholderia pseudomallei* strain first isolated in Russia

S.I.Zhukova, N.G.Plekhanova, I.A.Khabarova, P.R.Chirskov, A.Yu.Zamarina, I.B.Zakharova, A.V.Toporkov

Volgograd Research Institute for Plague Control of Rospotrebnadzor, Volgograd, Russian Federation

Resume. Melioidosis is a severe, highly lethal infectious disease caused by the saprophytic bacterium *Burkholderia pseudomallei*, which inhabits moist soils in endemic regions worldwide. In Russia, the first case of imported acute melioidosis was recorded in 2024, in a female tourist returning from Thailand.

Objective. To study the virulence, morphological, and biochemical properties and antibacterial susceptibility of the *B. pseudomallei* I-16 strain, isolated from autopsy specimens.

Materials and methods. Colony morphology of *B. pseudomallei* I-16 was studied on Trypticase soy agar and Ashdown agar after 72 hours of incubation at 37°C. Antibiotic susceptibility was determined using the disk diffusion method. To determine virulence, *B. pseudomallei* I-16 was injected intraperitoneally into mice (outbred and BALB/c) and golden hamsters. After 30 days, the Kerber LD_{50} and average lifespan were calculated. Pathological changes in the lungs, liver, and spleen were assessed visually.

Results. The B. pseudomallei I-16 strain had typical morphology on nutrient media and standard biochemical activity. The pathogen was sensitive to four of the seven antibacterial agents tested. The studied strain demonstrated high virulence in experimental models (LD_{50} – 10^1–10^2 m.c.) and caused pulmonary hemorrhages and multiple purulent-necrotic lesions in the liver and spleen in animals.

Для корреспонденции:

Замарина Анастасия Юрьевна, научный сотрудник лаборатории патогенных буркхольдерий ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 400066, Волгоград, ул. Голубинская, 7
Телефон: (8442) 37-3774
ORCID: 0009-0000-9671-6860

Статья поступила 26.02.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Anastasia Yu. Zamarina, Researcher at the Laboratory of Pathogenic Burkholderia, Volgograd Research Institute for Plague Control of Rospotrebnadzor

Address: 7 Golubinskaya str., Volgograd, 400066, Russian Federation
Phone: (8442) 37-3774
ORCID: 0009-0000-9671-6860

The article was received 26.02.2026, accepted for publication 30.06.2026

Conclusion. The acute septic course of melioidosis with a fatal outcome is most likely due to the high virulence of the *B. pseudomallei* I-16 strain.
Key words: Burkholderia pseudomallei, melioidosis, case of melioidosis in Russia, virulence, antibiotic sensitivity

For citation: Zhukova S.I., Plekhanova N.G., Khabarova I.A., Chirskov P.R., Zamarina A.Yu., Zakharova I.B., Toporkov A.V. Phenotypic characteristics of the *Burkholderia pseudomallei* strain first isolated in Russia. Bacteriology. 2026; 11(2): 71–76. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-71-76

Мелиоидоз – тяжелое инфекционное заболевание с высокой летальностью, которое вызывается сапрофитической бактерией *Burkholderia pseudomallei*, обитающей во влажных почвах эндемичных регионов мира, прежде всего в Таиланде и Северной Австралии. Мелиоидоз относится к сапронозам и, помимо людей, описан у многих видов млекопитающих, сумчатых, птиц, рептилий, рыб, в т.ч. домашних и сельскохозяйственных животных. За последние два десятилетия естественный ареал распространения мелиоидоза существенно расширился и в настоящее время охватывает территории 48 стран, географически расположенных между 30-ми параллелями всех континентов [1]. Постоянно возрастает количество завозных случаев мелиоидоза в страны умеренного климата не только из Юго-Восточной Азии, но и из Мексики, стран Южной Америки и Карибского бассейна, Восточной Африки, Мадагаскара, Океании, Китая и Индии [2]. По данным зарубежных источников, за период 2016–2022 гг. в мире выявлено 137, а в Европе за более длительный период (1980–2025 гг.) – 195 случаев заносного мелиоидоза, связанных с путешественниками [3–7]. Большинство из заболевших были мужчинами (71%), которые заразились в Азии (77%), в основном в Таиланде (41%) и Индии (9%). Небольшое количество пациентов заразились в регионах Южной Америки и Карибского бассейна (6%), Африки (5%) и Океании (2%). Наиболее частой сопутствующей патологией у заболевших мелиоидозом был сахарный диабет (25%), за которым следовали заболевания легких, печени и почек (8,5 и 3% соответственно). Употребление алкоголя/табака было отмечено у 5% пациентов, у 4% – ассоциированная иммуносупрессия, связанная с вирусом иммунодефицита человека, у 0,8% – сопутствующее заболевание коронавирусной инфекцией. У 27% заразившихся каких-либо фоновых заболеваний не выявлено. Наиболее частыми клиническими проявлениями были пневмония (35%), сепсис (30%), инфекции кожи и мягких тканей (14%). У большинства (55%) пациентов симптомы развились менее чем через неделю после возвращения из путешествия, у 29% – более чем через 12 нед. [3, 4].

Помимо путешественников, мелиоидоз может быть завезен на неэндемичные территории с инфицированными экзотическими животными или с товарами, контаминированными возбудителем. Так, в 2024 г. в США произошла вспышка из 4 случаев мелиоидоза (2 летальных). Источником инфекции оказался импортированный из Индии ароматерапевтический спрей [8].

В России зарегистрированы 2 случая заносного мелиоидоза. Первый инцидент отмечен в 2017 г. у 57-летнего жителя Москвы, у которого после туристической поездки в Таиланд в 2012 г. возникли труднодиагностируемые проблемы со здоровьем. Медицинскими специалистами разного профиля были поставлены диагнозы: лимфогранулематоз, туберкулез, саркоидоз, хронический миелоидный лейкоз, ни один из которых не подтвердился. В 2017 г. при двукратном лабораторном исследовании на мелиоидоз биоматериала от больного (кровь, моча, мокрота) во ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора методом полимеразной цепной реакции была выявлена ДНК *B. pseudomallei* с подтверждением секвенированием полученных ампликонов, однако культуру выделить не удалось. Известно, что выделить культуру любого возбудителя после длительной терапии антибиотиками достаточно проблематично, кроме того, для *B. pseudomallei* при хронических формах мелиоидоза характерна L-трансформация и переход в жизнеспособную, но некультивируемую форму [9, 10]. Поиск антигена в сыворотке крови не дал положительного результата, при этом был зарегистрирован невысокий диагностический титр специфических антител без тенденции к возрастанию. После курса терапии меропенемом наблюдали некоторую положительную динамику и пациента выписали без назначения второй части терапии, направленной на эрадикацию возбудителя. Больной умер в 1918 г. от нарастающей легочно-сердечной недостаточности.

Второй случай мелиоидоза в России зарегистрирован летом 2024 г. в Иркутской области (г. Ангарск) у 12-летней девочки, вернувшейся из Таиланда, где она в течение 2 нед. отдыхала вместе с родственниками. Девочка заболела за два дня до возвращения в Россию, и на следующие сутки после прибытия умерла в детской реанимации инфекционной больницы г. Ангарска от двусторонней септической пневмонии, осложненной тяжелой дыхательной и полиорганной недостаточностью.

Мелиоидоз может протекать у людей в различных клинических формах. В первом случае был хронический мелиоидоз с преимущественно легочной симптоматикой, напоминающей туберкулез, в то время как второй являлся острой септической формой инфекции. Острая форма мелиоидоза характеризуется тяжелой клинической картиной: пневмония, бактериемия, сепсис, абсцессы внутренних органав. При лечении неэффективными противомикробными препаратами, к которым снижена или отсутствует чувствительность возбудителя, показатели летальности могут превышать 70% [11], при сепсисе – до 90% даже при адекватной терапии [12].

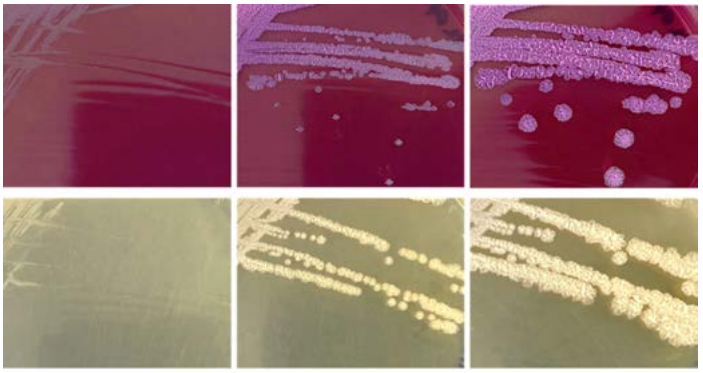
Подавляющее большинство эндемичных по мелиоидозу стран являются популярными для туризма, что, наряду с экспортом товаров и животных, является причиной регулярных заносов инфекции на неэндемичные территории. Мелиоидоз внесен в Перечень инфекционных заболеваний, требующих проведения мероприятий по санитарной охране территории Российской Федерации, в связи с чем анализ основных характеристик штамма *B. pseudomallei* И-16, вызвавшего

острый септический мелиоидоз, представляет определенный научно-практический интерес.

Цель исследования: изучение вирулентности, морфологических, биохимических свойств и чувствительности к антибактериальным препаратам штамма *B. pseudomallei* И-16.

Материалы и методы

Верификация видовой принадлежности бактериальной культуры, выделенной из патологического материала (фрагмент печени) и идентифицированной в клинической лаборатории как *Burkholderia* spp., проведена во ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора. Методом MALDI TOF-MS с использованием расширенной базы данных, дополненной масс-спектрами микроорганизмов I–II групп патогенности [13], в комплексе с методами ускоренной диагностики культура была идентифицирована как *B. pseudomallei*. Характер роста культуры изучали на рекомендованных для выделения возбудителя мелиоидоза питательных средах – триптиказо-соевом агаре (ТСА) и агаре Эшдауна. Инкубацию посевов проводили при 37°С в течение 72 ч для полного формирования морфотипов колоний. Определение чувствительности *B. pseudomallei* И-16 к антибактериальным препаратам проводили в соответствии с МУК 4.2.2495-09 «Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллез, сап, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам». Вирулентность для экспериментальных животных оценивали по показателю $ЛД_{50}$, средней продолжительности жизни животных после заражения (СПЖ), а также по характеру патологоанатомической картины. Для определения $ЛД_{50}$ культуру *B. pseudomallei* И-16 в дозах 10^2, 10^4, 10^6, 10^8 м.к. вводили внутрибрюшинно белым нелинейным мышам, мышам линии BALB/c и золотистым хомячкам (по 10 животных каждого вида на каждую дозу). В конце срока наблюдения (через 30 дней после заражения) вычисляли $ЛД_{50}$ по Керберу [14], а также определяли показатель СПЖ. Патологоанатомические изменения легких, печени и селезенки павших животных оценивали визуально. Полученные результаты обрабатывали статистически [15].



1-е сутки / *1 day* 2-е сутки / *2 day* 3-и сутки / *3 day*

Рис. 1. **Морфология колоний *B. pseudomallei* И-16 на агаре Эшдауна и ТСА.**
Fig. 1. ***Colony morphology of B. pseudomallei I-16 on Ashdown agar and TSA.***

Все исследования проводились в соответствии с СанПиН 3.3686-21 «Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней», все манипуляции с животными проводили в соответствии с законодательством России и международными этическими нормами. Протокол исследования согласован с комиссией по биоэтике ФКУЗ ВНИПЧИ (протокол №3 от 15.06.2025).

Результаты исследования и их обсуждение

Бактериальные клетки анализируемого штамма представляли собой грамотрицательные биполярные прямые, иногда изогнутые палочки и коккобациллы 0,8–1,6 нм, что типично для возбудителя мелиоидоза.

На ТСА и агаре Эшдауна штамм *B. pseudomallei* И-16 рос в R-форме, что также характерно для этой бактерии. Морфология колоний соответствовала наиболее распространенному в таиландской популяции возбудителя морфотипу I (>75%) по *Chantratita* [16] – матовые, непрозрачные, приподнятые над поверхностью агара колонии диаметром 2–4 мм с шероховатой складчатой поверхностью и неровным фестончатым краем, напоминающие гвоздики (рис. 1).

Таблица 1. **Чувствительность *B. pseudomallei* И-16 к антибактериальным препаратам**
Table 1. ***Sensitivity of B. pseudomallei I-16 to antibacterial drugs***

Антибактериальный препарат / *Antibacterial drug*	Содержание в диске, мкг / *Content in the disk, mcg*	Зона задержки роста, мм / *Growth inhibition zone, mm*	Интерпретация размеров зон задержки роста, мм / *Interpretation of the sizes of growth inhibition zones, mm*	
			R*	S*
Цефтазидим / *Ceftazidime*	30	19	≤14	≥18
Рифампицин / *Rifampicin*	30	8	≤14	≥19
Доксициклин / *Doxycycline*	10	22	≤12	≥16
Меропенем / *Meropenem*	10	10	≤13	≥16
Триметоприм/сульфаметоксазол / *Trimethoprim/sulfamethoxazole*	1,25/ 23,75	25	≤10	≥16
Амоксициллин/клавулановая кислота / *Amoxicillin/clavulanic acid*	20/10	9	≤14	≥21
Ципрофлоксацин / *Ciprofloxacin*	5	21	≤16	≥21

R* – штамм резистентен, S* – штамм чувствителен. / *R* – the strain is resistant, S* – the strain is sensitive.*

Таблица 2. **Показатели вирулентности *B. pseudomallei* И-16**
*Table 2. **Virulence indices of B. pseudomallei I-16***

Доза, м.к. / *Dose, m.c.*	Нелинейные мыши / *Outbred mice*		BALB/c		Золотистые хомячки / *Golden hamsters*	
	пало/взято / *fell/taken*	СПЖ, сутки / *LA, days*	пало/взято / *fell/taken*	СПЖ, сутки / *LA, days*	пало/взято / *fell/taken*	СПЖ, сутки / *LA, days*
10^2	7/10	26,7	10/10	16,0	10/10	2,7
10^4	8/10	21,2	10/10	14,5	10/10	2,6
10^6	10/10	17,9	10/10	12,6	10/10	2,0
10^8	10/10	6,8	10/10	1,2	10/10	1,8
LD_{50} (м.к., *m.c.*)	10^2		10^1		10^1	

Изучение биохимической активности штамма показало, что *B. pseudomallei* И-16 окисляет глюкозу, ксилозу, лактозу и мальтозу, не усваивает арабинозу. Штамм обладает каталазой и цитохрооксидазой, не образует индол и сероводород, не имеет лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы, но продуцирует аргининдигидролазу. Этот спектр биохимической активности изучаемого штамма характерен для возбудителя мелиоидоза.

Результаты определения чувствительности исследуемого штамма к антибактериальным препаратам представлены в табл. 1.

Показано, что *B. pseudomallei* И-16 чувствителен к цефтазидиму, ко-тримоксазолу, ципрофлоксацину, доксициклину, первые два из которых являются препаратами выбора для лечения мелиоидоза. Однако штамм оказался резистентным к 3 из 7 испытанных антибактериальных препаратов – рифампицину, амоксициллин/клавуланату и меропенему. Если рифампицин в настоящее время практически не используется в терапии мелиоидоза, то меропенем имеет важнейшее значение как один из основных препаратов, используемых в терапии тяжелых форм, а амоксициллин/клавуланат является основной альтернативой ко-тримоксазолу при непереносимости последнего.

Изучение вирулентных свойств исследуемого штамма показало, что он обладает высокой вирулентностью для всех 3 экспериментальных моделей: $ЛД_{50}$ составляла 10^1–10^2 м.к. (табл. 2).

Показатель $ЛД_{50}$ штамма *B. pseudomallei* И-16 для биомоделей с различной видовой чувствительностью к возбудителю мелиоидоза варьировал от 10 до 100 м.к., что свидетельствует о высокой вирулентности данного штамма. Показатели СПЖ нелинейных белых мышей статистически достоверно превосходили таковые у BALB/c ($p < 0,05$) и золотистых хомячков ($p < 0,05$), что соответствует видовой чувствительности. В то же время мыши BALB/c по показателю СПЖ были существенно более резистентны к данному штамму, чем золотистые хомячки ($p < 0,05$), однако по $ЛД_{50}$ значимых отличий от золотистых хомячков не выявлено ($p > 0,05$).

Патологоанатомическое исследование павших биопробных животных выявило поражения легких, печени и селезенки, при этом сроки и степень повреждения внутренних органов зависела от видовой чувствительности экспериментальных моделей к возбудителю мелиоидоза. У нелинейных мышей и мышей BALB/c обширные кровоизлияния в легких развивались в интервале от 7 до 25 суток после заражения в зависимости от инфицирующей дозы, у золотистых хомячков – на 2–3-и сутки. В печени и селезенке животных происходили изменения, имевшие характер острого гнойно-некротического абсцедирующего воспаления с формированием множественных очагов казеозного некроза различных размеров, от мелкоточечных до крупных. У нелинейных белых мышей подобная картина регистрировалась в интервале 12–18 суток после заражения, у мышей BALB/c – на 5–25-е сутки, у золотистых хомячков – на 3-и сутки (рис. 2).

Заключение

Проведенные исследования показали, что штамм *B. pseudomallei* И-16 имеет стандартные для возбудителя мелиоидоза характеристики по культуральным, морфологическим и биохимическим свойствам. В антибиотикограмме выделенной культуры обращает на себя внимание ее резистентность к меропенему и амоксициллин/клавуланату. Полученные данные о высокой вирулентности исследованного штамма свидетельствуют, что стремительное утяжеление клинического течения заболевания (сепсис, септический

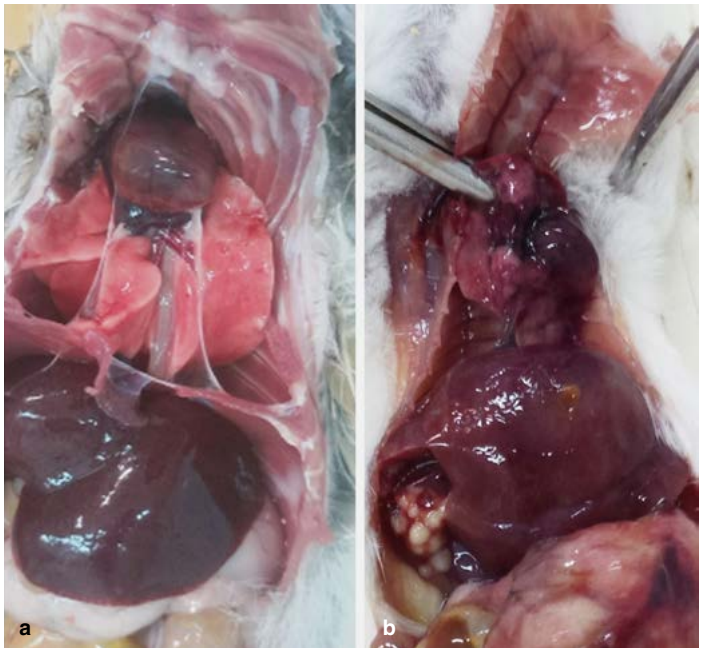


Рис. 2. **Общий вид внутренних органов здорового золотистого хомячка (a) и хомячка, погибшего от мелиоидоза на 3-и сутки после заражения *B. pseudomallei* И-16 (b).**
*Fig. 2. **General view of the internal organs of a healthy golden hamster (a) and a hamster that died from melioidosis on the 3rd day after infection with B. pseudomallei I-16 (b).***

шок, тяжелая двухсторонняя пневмония, дыхательная недостаточность III степени, синдром полиорганной недостаточности) у пациентки с неосложненным анамнезом жизни, приведшее к летальному исходу через 3 суток после появления первых симптомов, обусловлено именно вирулентными свойствами штамма *B. pseudomallei* И-16.

В последние годы туризм россиян в эндемичные по мелиоидозу страны, особенно в Китай и Таиланд, становится все более популярным, что увеличивает риск заноса мелиоидоза на территорию Российской Федерации. В связи с этим необходимо повысить настороженность в отношении данной инфекции и учитывать мелиоидоз при дифференциальной диагностике лихорадок неясной этиологии.

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding

No funding was received for conducting this study and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Жукова С.И. – обработка данных, в том числе статистический анализ, написание первоначального текста статьи; Плеханова Н.Г. – проведение исследований, в частности, оценка $ЛД_{50}$ для экспериментальных животных; Хабарова И.А. – проведение исследований, в частности, оценка патологоанатомических изменений органов экспериментально зараженных животных; Замарина А.Ю. – проведение исследований, в частности, изучение биохимической активности штамма; Чирсков П.Р. – проведение исследований, в частности, морфологическая характеристика и определение чувствительности к антибактериальным препаратам; Захарова И.Б. – концепция и дизайн исследования, визуализация, итоговая редакция рукописи; Топорков А.В. – окончательное утверждение версии для публикации.

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

Zhukova S.I. – data processing, including statistical analysis, and writing the original manuscript; Plekhanova N.G. – research, including LD_{50} estimation for experimental animals; Khabarova I.A. – research, including evaluation of pathological changes in the organs of experimentally infected animals.

Zamarina A.Yu. – research, including studying the biochemical activity of the strain; Chirskov P.R. – research, including morphological characterization and determination of susceptibility to antibacterial drugs; Zakharova I.B. – study concept and design, visualization, and final revision of the manuscript; Toporkov A.V. – final approval of the version to be published.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Захарова ИБ, Топорков АВ, Викторов ДВ. Мелиоидоз в аспектах эпидемиологии, клиники и лабораторной диагностики. Инфекция и иммунитет. 2021;11(3):409-422. DOI: 10.15789/2220-7619-MIA-1584
2. Захарова ИБ. Актуальные вопросы современной эпидемиологии мелиоидоза: обзор литературы и анализ случаев завоза инфекции в неэндемичные регионы. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2018;23(3):126-133. DOI: 10.18821/1560-9529-2018-23-3-126-133
3. Norman FF, Chen LH. Travel-associated melioidosis: a narrative review. J Travel Med. 2023 May 18;30(3):taad039. DOI: 10.1093/jtm/taad039
4. Henczkó J, Tóth Á, Knausz M, Gartner B, Reményi Á, Bíró E, et al. Whole Genome Sequencing and Comparative Genomics of the Emerging Pathogen *Burkholderia pseudomallei* Isolated from Two Travel-Related Infections in Hungary. Pathogens. 2025 Oct 31;14(11):1108. DOI: 10.3390/pathogens14111108
5. Al Salti M, Al Subhi M, Al-Jardani A, Al-Rashdi A, Almayahi ZK. *Burkholderia pseudomallei* Septic Arthritis of the Knee Joint: Report of a Third Imported Case in Oman. Qatar Med J. 2022 Mar 4;2022(1):13. DOI: 10.5339/qmj.2022.13
6. Cohen-Gihon I, Zaide G, Amit S, Zohar I, Schwartz O, Maor Y, et al. Genome sequence of two novel virulent clinical strains of *Burkholderia pseudomallei* isolated from acute melioidosis cases imported to Israel from India and Thailand. BMC Genom Data. 2024 May 23;25(1):47. DOI: 10.1186/s12863-024-01225-x
7. Ekoka Mbassi D, Abdelrahim AG, Grewe I, Michelitsch PM, Hennigs A, Olearo F, et al. Melioidosis imported to Northern Germany: a case report series. Infection. 2026 Apr;54(2):991-1000. DOI: 10.1007/s15010-025-02692-9
8. Cote CK, Mlynek KD, Klimko CP, Biryukov SS, Mou S, Hunter M, et al. Virulence of *Burkholderia pseudomallei* ATS2021 Unintentionally Imported to United States in Aromatherapy Spray. Emerg Infect Dis. 2024 Oct;30(10):2056-2069. DOI: 10.3201/eid3010.240084
9. Замараев ВС, Илюхин ВИ, Саямов СР. Л-трансформация возбудителей как один из путей реализации хронического носительства бактерий рода *Pseudomonas*. Микробиол. журн. 1987;49(3):91-96.
10. Inglis TJ, Sagripanti JL. Environmental factors that affect the survival and persistence of *Burkholderia pseudomallei*. Appl Environ Microbiol. 2006 Nov;72(11):6865-75. DOI: 10.1128/AEM.01036-06
11. Lipsitz R, Garges S, Aurigemma R, Baccam P, Blaney DD, Cheng AC, et al. Workshop on treatment of and postexposure prophylaxis for *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei* Infection, 2010. Emerg Infect Dis. 2012 Dec;18(12):e2. DOI: 10.3201/eid1812.120638

12. Currie BJ. Melioidosis and *Burkholderia pseudomallei*: progress in epidemiology, diagnosis, treatment and vaccination. Curr Opin Infect Dis. 2022 Dec 1;35(6):517-523. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000869
13. Свидетельство о государственной регистрации базы данных №2016620345. Белковые профили масс-спектров микроорганизмов I–II групп патогенности для программы MALDI Biotyper. Абдрашитова АС, Щербакова НЕ, Спицын АН, Касьян ЖА, Сеничкина АМ, Портенко СА, и др. Регистрация в Реестре баз данных 15.03.2016.
14. Анганова ЕВ, Савилов ЕД, Астафьев ВА. Определение патогенности (вирулентности) условно-патогенных энтеробактерий. Методические рекомендации. Иркутск: из-во ИГМАПО, 2015.
15. Ашмарин ИП, Воробьев АА. Статистические методы в микробиологических исследованиях. Л.: Государственное издательство медицинской литературы, 1962.
16. Chantratita N, Wuthiekanun V, Boonbumrung K, Tiyawisutsri R, Vesaratchavest M, Limmathurotsakul D, et al. Biological relevance of colony morphology and phenotypic switching by *Burkholderia pseudomallei*. J Bacteriol. 2007 Feb;189(3):807-17. DOI: 10.1128/JB.01258-06

References

1. Zakharova IB, Toporkov AV, Viktorov DV. Melioidosis in aspects of epidemiology, clinic, and laboratory diagnostics. Russian Journal of Infection and Immunity. 2021;11(3):409-422. DOI: 10.15789/2220-7619-MIA-1584 (In Russian).
2. Zakharova IB. Actual issues of modern epidemiology of melioidosis: a literature review and analysis of imported cases to non-endemic regions. Epidemiology and Infectious Diseases. 2018;23(3):126-133. DOI: 10.18821/1560-9529-2018-23-3-126-133 (In Russian).
3. Norman FF, Chen LH. Travel-associated melioidosis: a narrative review. J Travel Med. 2023 May 18;30(3):taad039. DOI: 10.1093/jtm/taad039
4. Henczkó J, Tóth Á, Knausz M, Gartner B, Reményi Á, Bíró E, et al. Whole Genome Sequencing and Comparative Genomics of the Emerging Pathogen *Burkholderia pseudomallei* Isolated from Two Travel-Related Infections in Hungary. Pathogens. 2025 Oct 31;14(11):1108. DOI: 10.3390/pathogens14111108
5. Al Salti M, Al Subhi M, Al-Jardani A, Al-Rashdi A, Almayahi ZK. *Burkholderia pseudomallei* Septic Arthritis of the Knee Joint: Report of a Third Imported Case in Oman. Qatar Med J. 2022 Mar 4;2022(1):13. DOI: 10.5339/qmj.2022.13
6. Cohen-Gihon I, Zaide G, Amit S, Zohar I, Schwartz O, Maor Y, et al. Genome sequence of two novel virulent clinical strains of *Burkholderia pseudomallei* isolated from acute melioidosis cases imported to Israel from India and Thailand. BMC Genom Data. 2024 May 23;25(1):47. DOI: 10.1186/s12863-024-01225-x
7. Ekoka Mbassi D, Abdelrahim AG, Grewe I, Michelitsch PM, Hennigs A, Olearo F, et al. Melioidosis imported to Northern Germany: a case report series. Infection. 2026 Apr;54(2):991-1000. DOI: 10.1007/s15010-025-02692-9
8. Cote CK, Mlynek KD, Klimko CP, Biryukov SS, Mou S, Hunter M, et al. Virulence of *Burkholderia pseudomallei* ATS2021 Unintentionally Imported to United States in Aromatherapy Spray. Emerg Infect Dis. 2024 Oct;30(10):2056-2069. DOI: 10.3201/eid3010.240084
9. Zamaraev VS, Ilyukhin VI, Sayamov SR. L-transformation of pathogens as one of the ways of realization of chronic carriage of bacteria of the genus *Pseudomonas*. Microbiological Journal. 1987;49(3):91-96. (In Russian).
10. Inglis TJ, Sagripanti JL. Environmental factors that affect the survival and persistence of *Burkholderia pseudomallei*. Appl Environ Microbiol. 2006 Nov;72(11):6865-75. DOI: 10.1128/AEM.01036-06
11. Lipsitz R, Garges S, Aurigemma R, Baccam P, Blaney DD, Cheng AC, et al. Workshop on treatment of and postexposure prophylaxis for *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei* Infection, 2010. Emerg Infect Dis. 2012 Dec;18(12):e2. DOI: 10.3201/eid1812.120638

12. Currie BJ. Melioidosis and *Burkholderia pseudomallei*: progress in epidemiology, diagnosis, treatment and vaccination. Curr Opin Infect Dis. 2022 Dec 1;35(6):517-523. DOI: 10.1097/QCO.0000000000000869
13. Certificate of state registration of the database No. 2016620345. Protein profiles of mass spectra of microorganisms of I–II pathogenicity groups for the MALDI Biotyper program. Abdrashitova AS, Shcherbakova NE, Spitsyn AN, Kas'yan ZhA, Senichkina AM, Portenko SA, et al. Registration in the Database Register 03/15/2016. (In Russian).
14. Anganova EV, Savilov ED, Astafiev VA. Determination of pathogenicity (virulence) of opportunistic enterobacteria. Methodological recommendations. Irkutsk: Publishing House Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education, 2015. (In Russian).
15. Ashmarin IP, Vorobyov AA. Statistical methods in microbiological research. L.: State Publishing House of Medical Literature, 1962. (In Russian).
16. Chantratita N, Wuthiekanun V, Boonbumrung K, Tiyawisutsri R, Vesaratchavest M, Limmathurotsakul D, et al. Biological relevance of colony morphology and phenotypic switching by *Burkholderia pseudomallei*. J Bacteriol. 2007 Feb;189(3):807-17. DOI: 10.1128/JB.01258-06

Информация о соавторах:

Жукова Светлана Ивановна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальных биомоделей ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-6271-8390

Плеханова Наталья Геннадиевна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальных биомоделей ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-2471-8776

Хабарова Ирина Андреевна, научный сотрудник лаборатории экспериментальных биомоделей ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-1767-7790

Чирсков Павел Романович, научный сотрудник лаборатории патогенных буркхольдерий ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-2847-5177

Захарова Ирина Борисовна, доктор биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории патогенных буркхольдерий ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-7808-7658

Топорков Андрей Владимирович, доктор медицинских наук, директор ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-3449-4657

Information about co-authors:

Svetlana I. Zhukova, MD, PhD, Associate Professor, Senior Researcher at the Laboratory of Experimental Biomodels, Volgograd Research Institute for Plague Control of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-6271-8390

Natalia G. Plekhanova, PhD in Biological Sciences, Associate Professor, Senior Researcher at the Laboratory of Experimental Biomodels, Volgograd Research Institute for Plague Control of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-2471-8776

Irina A. Khabarova, Researcher at the Laboratory of Experimental Biomodels, Volgograd Research Institute for Plague Control of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-1767-7790

Pavel R. Chirskov, Researcher at the Laboratory of Pathogenic Burkholderia, Volgograd Research Institute for Plague Control of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-2847-5177

Irina B. Zakharova, PhD, DSc (Biological Sciences), Associate Professor, Leading Researcher at the Laboratory of Pathogenic Burkholderia, Volgograd Research Institute for Plague Control of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-7808-7658

Andrey V. Toporkov, MD, PhD, DSc, Director, Volgograd Research Institute for Plague Control of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-3449-4657

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-77-83

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 77–83
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 77–83

Чувствительность к средствам антибактериальной химиотерапии *Yersinia pestis* из горных очагов чумы Сибири: ретроспективное исследование и современное состояние

Е.Г.Токмакова, И.Г.Хвойнова, С.С.Архипенко, С.А.Витязева, Д.Н.Шипилова, В.А.Вишняков, С.В.Балахонов

ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, Иркутск, Российская Федерация

В активных природных очагах чумы мониторинг чувствительности *Yersinia pestis* к антибиотикам является важным элементом эпидемиологического надзора. Методом серийных разведений в агаре изучена чувствительность к антибактериальным препаратам первого и второго ряда для профилактики и лечения чумы (стрептомицину, амикацину, гентамицину, доксициклину, канамицину, хлорамфениколу, цефотаксиму, ципрофлоксацину), а также азитромицину и окситетрациклину у 43 коллекционных, 2 референтных и 63 апробационных штаммов *Y. pestis* из двух природных очагов Сибири – Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного. Диско-диффузионным методом определена чувствительность к стрептомицину у 122 штаммов, изолированных в 2020–2024 гг. Штаммы независимо от времени выделения были чувствительны к использованным препаратам, устойчивых не выявлено. Азитромицин предложено рассматривать как перспективный антибиотик для терапии и профилактического лечения чумы в сибирских очагах чумы, минимальная подавляющая концентрация этого препарата составила 2–4 мг/л. Коммерческие стрипы MIC-TEST strip (Liofylchem, Италия) для штаммов возбудителя чумы нуждаются в адаптации.
Ключевые слова: антибактериальные препараты, Yersinia pestis, чума, MIC-TEST strip (Liofylchem, Италия), азитромицин

Для цитирования: Токмакова Е.Г., Хвойнова И.Г., Архипенко С.С., Витязева С.А., Шипилова Д.Н., Вишняков В.А., Балахонов С.В. Чувствительность к средствам антибактериальной химиотерапии *Yersinia pestis* из горных очагов чумы Сибири: ретроспективное исследование и современное состояние. Бактериология. 2026; 11(2): 77–83. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-77-83

Sensitivity of *Yersinia pestis* from mountain plague foci of Siberia to antibacterial chemotherapy agents: retrospective study and current state

E.G.Tokmakova, I.G.Khvoinova, S.S.Arkhipenko, S.A.Vitiazeva, D.N.Shipilova, V.A.Vishnyakov, S.V.Balakhonov

Irkutsk Anti-plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, Irkutsk, Russian Federation

In active natural foci, monitoring of the sensitivity of *Yersinia pestis* to antibiotics is an important element of epidemiological surveillance. Target of researche is to determine the sensitivity to antibacterial preparations of *Y. pestis* strains isolated in Tuva mountain and Gorno-Altai highland natural foci of plague in the first years of establishment of enzootic in these territories and in the last decade. The sensitivity of *Y. pestis* from the Gorno-Altai highland and Tuva mountain foci of plague to antibacterial preparations for the prevention and treatment of this infection was studied: streptomycin, amikacin, gentamicin, doxycycline, kanamycin, chloramphenicol, cefotaxime, ciprofloxacin, as well as azithromycin and oxytetracycline. Serial dilutions in agar, disc-diffusive method, gradient test strips Liofylchem®, Italy, were used. The tested strains were isolated in the 60–70s of the XX century (45 strains) and the first quarter of the XXI century (126 strains). The reliability of the obtained results was evaluated based on the data for the control strains *Y. pestis* EV NIIEG and *Escherichia coli* ATCC 25922. Strains regardless of time of isolation were sensitive to the antibacterial preparations used, resistant not identified. Azithromycin is proposed to be considered as a promising antibiotic for the therapy and prophylactic treatment of plague in Siberian plague foci, the minimum inhibitory concentration of this preparation was 2–4 mg/ l. The results obtained by MIC-TEST strip (Liofylchem, Italy) were not valid and use of this method for plague agent strains needs to be adapted.
Key words: antibacterial drugs, Yersinia pestis, plague, MIC-TEST strip (Liofylchem, Italy), azithromycin

For citation: Tokmakova E.G., Khvoinova I.G., Arkhipenko S.S., Vitiazeva S.A., Shipilova D.N., Vishnyakov V.A., Balakhonov S.V. Sensitivity of *Yersinia pestis* from mountain plague foci of Siberia to antibacterial chemotherapy agents: retrospective study and current state. Bacteriology. 2026; 11(2): 77–83. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-77-83

Для корреспонденции:

Токмакова Елена Геннадьевна, старший научный сотрудник зоолого-паразитологического отдела, ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78

Статья поступила 15.02.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Elena G. Tokmakova, Senior Researcher at the Zoological and Parasitological Department, Irkutsk Anti-plague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor

Address: 78 Trilisser str., Irkutsk, 664047, Russian Federation

The article was received 15.02.2026, accepted for publication 30.06.2026

В Сибири первая четверть XXI в. отмечена рядом потенциальных и свершившихся эпизодов эпидемических осложнений по чуме. В 2008 г. в Тувинском горном очаге чумы у ребенка на летней скотоводческой стоянке изъят больной чумой суслик, потребовалось профилактическое лечение. В 2014–2016 гг. в Горно-Алтайском высокогорном очаге чумы обратились за врачебной помощью трое местных жителей, заболевших чумой после охоты на сурка, еще от одного контактного лица выделена культура возбудителя [1–4]. В активных очагах чумы Сибири ежегодно проводится комплекс необходимых мер специфической и неспецифической профилактики [4–6], однако, учитывая менталитет и традиционный образ жизни коренного населения, повторения описанных событий нельзя исключить полностью. Необходимо принимать во внимание риск для людей, связанный с возможным увеличением энзоотичной по чуме территории в будущем, которая уже расширилась с момента обнаружения первых культур: в 20 раз с 1964 г. в Тувинском горном очаге [6] и 10-кратно с 1961 г. в Горно-Алтайском высокогорном очаге [7]. В связи с этим обеспечение противоэпидемической готовности органов здравоохранения в соответствующих административных субъектах должно включать актуализацию схем лечения этой инфекции и формирование резерва антибактериальных препаратов (АБП). Последний укомплектовывается на основании результатов мониторинга чувствительности выделенных штаммов *Yersinia pestis* к антибиотикам.

Показано, что резистентность бактерий чумы к антибиотикам не обязательно является следствием бесконтрольного их использования при высокой плотности населения. В 1996 г. в Тибетском автономном районе Китая спонтанная мутация в гене хромосомной локализации обусловила устойчивость возбудителя чумы к стрептомицину и привела к смерти трех человек на фоне лечения этим препаратом: жены пастуха, заразившегося на охоте, ветеринара, ухаживавшего за ним, и сельского врача [8]. Данный пример демонстрирует, что мониторинг антибиотикочувствительности *Y. pestis* в действующих очагах чумы является не только эпидемиологически и клинически значимым, но и социально ответственным разделом изучения этого особо опасного патогена.

Цель работы – определить чувствительность к антибактериальным препаратам штаммов *Y. pestis*, выделенных в Тувинском горном и Горно-Алтайском высокогорном природных очагах чумы в первые годы установления на этих территориях энзоотии и в последнее десятилетие.

Материалы и методы

Использованные штаммы возбудителя чумы выделены на территории Горно-Алтайского высокогорного и Тувинского горного природных очагов в 1960-е гг. (1961–1965 гг. – в Горно-Алтайском, 1964–1966 гг. – в Тувинском) и в последнее десятилетие (во время эпидосложнений 2016 г. и в 2020–2024 гг.), принадлежат к основному подвиду или алтайскому биовару центральноазиатского подвида. Также были проверены референтные штаммы *Y. pestis* этих подвидов: И-2359 и И-2638. В качестве контрольных штаммов использовали *Y. pestis* EV НИИЭГ и *Escherichia coli* АТСС 25922, чувствительные к антибиотикам. Штаммы 1960-х гг., референтные и контрольные хранились в коллекции Иркутского противочумного института и были восстановлены из лиофилизированного состояния. Остальные штаммы исследовались после поступления в институт.

Чувствительность штаммов к антибактериальным препаратам определяли следующими методами: 43 коллекционных, 2 референтных и 63 апробационных штаммов – методом серийных разведений в агаре (МСР), 122 штаммов, выделенных за последние 5 лет, – диско-диффузионным методом (ДДМ) с использованием дисков с 30 мкг стрептомицина (НИЦФ, Санкт-Петербург, Россия), из них 14 штаммов – MIC-TEST strip (Liofylchem®, Италия). Процедуры исследования соответствовали МУК 4.2.2495-09, для готовых диагностических изделий – дополнительно инструкциям производителя.

Тестирование проводили на плотных питательных средах: Мюллера–Хинтон (pH 7,3 ± 0,2, HiMedia, Индия) или Хоттингера (pH 7,2, Иркутский противочумный институт). Агар без добавок применяли для диффузионных тестов и контроля жизнеспособности штаммов. Взвеси 24-часовых агаровых культур испытуемых и контрольных штаммов, соответствующих отраслевому стандартному образцу (ОСО) мутности 5 Ед ($5 \cdot 10^8$ м.к.), в объеме 0,2 мл распределяли стерильным шпателем по поверхности агаровых пластинок толщиной 4–5 мм и подсушивали ~15 мин. Диски или тест-полоски накладывали стерильным пинцетом на поверхность посева, диски слегка прижимали, тест-полоски – разглаживали по всей длине. Газоны подращивали в инкубаторе 24 ч при оптимальной для бактерий температуре: *Y. pestis* – 28°C, *E. coli* – 37°C.

Для серийных разведений готовили рабочие растворы АБП на дистиллированной воде или димексиде (доксициклин, окситетрациклин) в концентрациях, удобных для внесения в питательную среду, и добавляли, последовательно двукратно увеличивая вносимый объем, в расплавленный и остуженный агар. Определяли минимальную подавляющую концентрацию (МПК) АБП на основании следующих их разведений в среде: стрептомицин 1-2-4-8-16-32-64 мг/л, амикацин 1-2-4-8-16-32-64 мг/л, гентамицин 0,25-0,5-1-2-4-8-16 мг/л, цефотаксим 0,004-0,008-0,016-0,032-0,064-0,125-0,25-0,5-1-2-4 мг/л, ципрофлоксацин 0,004-0,008-0,016-0,032-0,064-0,125-0,25-0,5-1,0 мг/л, канамицин 1-2-4-8-16-32-64 мг/л, доксициклин 0,25-0,5-1-2-4-8-16 мг/л, левомицетин (хлорамфеникол) 0,5-1-2-4-8-16 мг/л. Два АБП – азитромицин и окситетрациклин – не входят в рекомендованный список для терапии чумы, содержание того и другого антибиотика составляло 0,25-0,5-1-2-4-8-16 мг/л агара.

Взвеси 24-часовых агаровых культур испытуемых и контрольных штаммов, соответствующих ОСО мутности 5 Ед ($5 \cdot 10^8$ м.к.), наносили на поверхность питательного агара без АБП (контроль) и с АБП с помощью штампа-репликатора, начиная с наименьшей концентрации. Всего поставили 10 опытов с разным набором тестируемых штаммов. Параллельно на каждую чашку засевали контрольные штаммы *E. coli* АТСС 25922 и *Y. pestis* EV НИИЭГ. После полного впитывания капель бактериальных суспензий посевы инкубировали при 28°C в течение 24–48 ч.

Таблица 1. **Значения МПК антибактериальных препаратов для контрольных штаммов на двух питательных средах, мг/л**
*Table 1. **MIC values of antibacterial drugs for control strains on two nutrient media, mg/l***

Контрольный штамм / *Control strain*	*Y. pestis* EV НИИЭГ		*E. coli* ATCC 25922	
Питательная среда / *Nutrient medium* / АБП	агар Мюллера–Хинтон / *Mueller–Hinton Agar*	агар Хоттингера / *Hottinger Agar*	агар Мюллера–Хинтон / *Mueller–Hinton Agar*	агар Хоттингера / *Hottinger Agar*
Стрептомицин / *Streptomycin*	2	НД	2	НД
Азитромицин / *Azithromycin*	НД	2–4	НД	1–4
Амикацин / *Amikacin*	2–4	НД	2–4	НД
Гентамицин / *Gentamicin*	0,5–2	НД	1–2	НД
Доксициклин / *Doxycycline*	0,5–1	2	1–2	2
Канамицин / *Kanamycin*	4	НД	4	НД
Окситетрациклин / *Oxytetracycline*	НД	4–8	НД	4
Цефотаксим / *Cefotaxime*	0,004–0,016	0,008–0,016	0,064–0,125	0,032
Ципрофлоксацин / *Ciprofloxacin*	0,008–0,064	0,016	0,004–0,008	0,004–0,008
Хлорамфеникол / *Chloramphenicol*	1–4	4	4	4–8

НД – нет данных. / *АБП – antibacterial drug; НД – no data available.*

Результаты исследования и их обсуждение

Определение чувствительности *Y. pestis* к АБП методом серийных разведений

Учет результатов проводили, опираясь на наличие и характер роста на агаре без антибиотиков и на величины МПК указанных АБП для контрольных штаммов. Через 24 ч инкубации наблюдали типичный рост культуральных бляшек у большинства опытных штаммов.

Значения МПК рекомендованных АБП для контрольных штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *Y. pestis* EV НИИЭГ в основном совпадали с таковыми, представленными в МУК 4.2.2495-09 (табл. 1).

Все тестированные штаммы были чувствительны к исследованным группам антибиотиков, резистентных не выявили (табл. 2).

Среди протестированных АБП два препарата – окситетрациклин и азитромицин – не отнесены к средствам терапии при чуме (МУК 4.2.2495-09, МУ 3.1/4.2.4065-24). Окситетрациклин показал высокую терапевтическую активность в опытах на зараженных чумой белых мышах [9], но лучшим на сегодняшний день антибиотиком этой группы, учитывая фармакокинетику и частоту побочных реакций, считается доксициклин [10]. Азитромицин из группы макролидов обладает хорошим профилем безопасности и рекомендован для лечения различных инфекций, в т.ч. вызываемых иерсиниями [11]. Исследование, проведенное во Вьетнаме на 78 штаммах *Y. pestis*, выделенных преимущественно от людей, показало их вариабельную чувствительность к данному препарату: от 4 до 32 мг/л. Был сделан вывод о слабой эффективности азитромицина для лечения чумной инфекции, авторы даже не стали определять его бактерицидную активность, как для других антибиотиков [12]. Рост всех штаммов из Тувинского очага чумы, изолированных в 2023–2024 гг., полностью подавлялся азитромицином в концентрации 4 мг/л. В последнем опыте после 72 ч экспозиции с данной концентрацией азитромицина с пятен нанесения всех культур были взяты соскобы бактериологической петлей и посеяны каждый в бульон Хоттингера. Посевы инкубировали в течение 5 суток при 28°С. По истечении данного срока рост наблюдали только у контрольного штамма *E. coli* 25922 ATCC, в бульонах, инокулированных чумным микробом, рост отсутствовал. Таким образом, концентрация азитромицина 4 мг/л среды являлась бактерицидной по крайней мере для 12 исследованных штаммов возбудителя чумы. Чувствительность *Y. pestis* к азитромицину, по-видимому, варьирует в зависимости от места и источника выделения штамма. И хотя возбудитель чумы уступает по чувствительности к этому препарату грамположительным бактериям и критерии интерпретации не разработаны, данный антибиотик заслуживает внимания как перспективный для терапии инфекции, вызванной штаммами из сибирских природных очагов чумы.

Определение антибиотикочувствительности штаммов ДДМ

С помощью ДДМ установили чувствительность штаммов чумного микроба основного подвида и алтайского биовара центральноазиатского подвида к стрептомицину. На агаре Хоттингера диаметр зон подавления роста контрольных штаммов не отклонялся от допустимых величин,

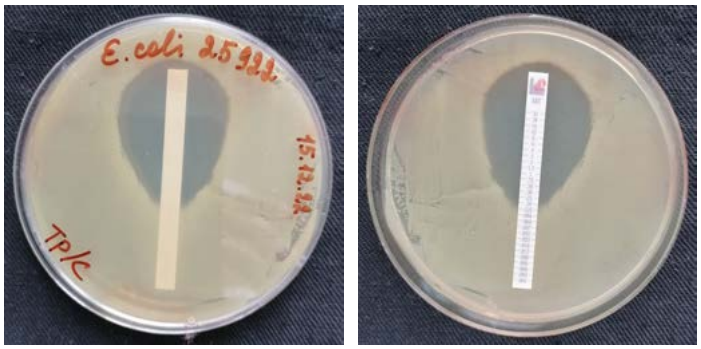


Рисунок. **Вид зоны задержки роста *E. coli* ATCC 25922 MIC-TEST strip (Liofylchem, Италия) с триметопримом/сульфаметоксазолом. Слева – вид со стороны дна, справа – вид сверху.**
*Figure. **View of the growth inhibition zone of E. coli ATCC 25922 MIC-TEST strip (Liofylchem, Italy) with trimethoprim/sulfamethoxazole. Left – view from the bottom, right – view from the top.***

Таблица 2. **Результаты определения чувствительности штаммов возбудителя чумы к АБП методом серийных разведений**
*Table 2. **Results of determining the sensitivity of plague pathogen strains to ABP using the serial dilution method***

№ опыта / *Experiment No*	Питательная среда / *Nutrient medium*	Год выделения / *Year of isolation*	Количество штаммов / *Number of strains*	Значения МПК, мг/л / *MIC values, mg/L*									
				Стрептомицин / *Streptomycin*	Амикацин / *Amikacin*	Гентамицин / *Gentamicin*	Доксициклин / *Doxycycline*	Канамицин / *Kanamycin*	Цефотаксим / *Cefotaxime*	Ципрофлоксацин / *Levomycetin*	Хлорамфеникол / *Chloramphenicol*	Азитромицин / *Azithromycin*	Окситетрациклин / *Oxytetracycline*
I	Агар Мюллера–Хинтон / *Mueller–Hinton Agar*	1961–1965	13	2–4	2–4	1–2	НД	1–4	≤0,125*	0,008–0,064	НД	НД	НД
		1961	2	2	1	1	НД	2	≤0,125*	0,016–0,032	НД	НД	НД
II		1973	1р	2	1	1	НД	2	≤0,125*	0,016	НД	НД	НД
		1977	1р	2	2	1	НД	2	≤0,125*	0,016	НД	НД	НД
III		1961–1965	11	1–2	1–2	0,5–1	0,5	2–4	0,004–0,008	0,004–0,008	2	НД	НД
		1965	3	2	1–2	1	0,5–1	4	0,008–0,016	0,008–0,016	2	НД	НД
IV		2016	2ч	2–4	1–2	1–2	1–2	4	0,008	0,032	НД	НД	НД
			2с	4	2	2	2	8	0,008	0,032	НД	НД	НД
			2	2	2	1	1	4	0,008	0,008	≤0,5	НД	НД
V		1964–1966	14	НД	1–8	0,5–2	0,5–2	НД	0,016–0,032	0,032	НД	НД	НД
VI		2022	14	НД	2–4	0,5–2	1–4	НД	0,016	0,032	4	НД	НД
VII			3	НД	<1–4	1–2	2	НД	0,008–0,016	0,032	≤1–8	НД	НД
VIII	Агар Хоттингера / *Hottinger Agar*	2023	14	НД	НД	НД	2	НД	0,008–0,016	0,004–0,016	4–8	4	4–8
IX			14	НД	НД	НД	2	НД	0,008–0,016	0,016	4	2–4	4–8
X			9	НД	НД	НД	2	НД	0,008–0,016	0,016	4	2–4	4–8
		2024	3	НД	НД	НД	2	НД	0,016	0,016	4	4	4

НД – нет данных; * наименьшее содержание АБП в агаре; р – референтный штамм; серым цветом выделены штаммы алтайского биовара центральноазиатского подвида; ч, с – изолированы в Горно-Алтайском высокогорном очаге от людей и добытых ими сурков соответственно; остальные штаммы основного подвида из Тувинского горного очага чумы.
*ND – no data; * lowest ABP content in agar; p – reference strain; strains of the Altai biovar of the Central Asian subspecies are highlighted in gray; ч, с – isolated in the Gorno-Altai high-mountain focus from people and the marmots they hunted, respectively; the remaining strains of the main subspecies from the Tuva mountain plague focus.*

рост опытных штаммов колебался в пределах 19–30 мм. Нижнее значение отмечено только у 1 штамма, у остальных рост был ингибирован в пределах окружности диаметром не менее 20 мм, что соответствует стандартному диапазону значений для чувствительных штаммов возбудителя чумы.

Чувствительность к АБП апробационных штаммов возбудителя чумы, показанная MIC-TEST strip (Liofylchem, Италия)

Через 24 ч все посеянные культуры имели вид ровного газона с зоной подавления роста в виде неправильного эллипса вокруг стрипа с АБП (рисунок). Полученные значения чувствительности к АБП приведены в табл. 3.

Сразу отметим, что допустимые величины МПК триметоприма-сульфаметоксазола для *E. coli* ATCC 25922 по требованиям МУК 4.2.2495-09 и рекомендации Liofilchem® [13] различаются (табл. 3). Указанное расхождение создает определенные трудности для интерпретации результата.

При взаимодействии с тестированными АБП контрольный штамм *E. coli* ATCC 25922 проявил стандартные показатели чувствительности. Штаммы *Y. pestis*, включая контрольный, имели диапазоны чувствительности к доксициклину, цефтриаксону и налидиксовой кислоте, сопоставимые с приведенными в МУК 4.2.2495-09. В то же время МПК амикацина, левомицетина и ципрофлоксацина для *Y. pestis* EV НИИЭГ превышали допустимые, а для опытных штаммов МПК этих же АБП и стрептомицина получились завышенными. Это заключение основывается не только на значениях для сравнения из нормативного документа, но и на результатах, полученных ДДМ. Согласно МУК 4.2.2495-09, на агаре Хоттингера для одних и тех же штаммов возбудителя чумы при задержке роста стрептомицином в зоне диаметром 20–27 мм соответствующие МПК этого препарата находились в пределах 1–8 мг/л. Следовательно, рост протестированных штаммов должен был остановиться на отметке 8 мг/л, но этого не наблюдали. На момент использования упаковка стрипов находилась в целости, а условия хранения были соблюдены, поэтому в дальнейшем от использования MIC-TEST strip отказались. Нормирование МПК химиопрепаратов для *Y. pestis* у Liofilchem® отсутствует. Описано успешное применение для возбудителя чумы аналогичных стрипов HiMedia (Индия) – HiComb™ MIC Test или E-test [14–16]. Стоит отметить, что Lonsway et al. [14] не рекомендовали Е-тест в качестве «приемлемой альтернативы» МСР для хлорамфеникола и триметоприма-сульфаметоксазола. В двух других работах значения, полученные в Е-тесте, не входили в противоречие с аналогичными данными для других методов, но Балахонов с соавт. [15] МПК хлорамфеникола и триметоприма-сульфаметоксазола не оценивали. Позднее

Таблица 3. **Определение чувствительности/устойчивости штаммов чумного микроба алтайского и основного подвидов методом MIC-TEST strip на агаре Мюллера–Хинтон**
Table 3. ***Determination of the sensitivity/resistance of strains of the Altai plague microbe and the main subspecies by the MIC-TEST strip method on Mueller–Hinton agar***

№ п/п / *No.*	Вид / *Species*	Подвид / *Subspecies*	Штаммы / *Srtrains* АБП	Стрептомицин / *Streptomycin*	Амикацин / *Amikacin*	Доксициклин / *Doxycycline*	Левомицетин / *Levomycetin*	Цефотаксим / *Cefotaxime*	Ципрофлоксацин / *Levomycetin*	Триметоприм*-Сульфаметоксазол / *Trimethoprim*-sulfamethoxazole*	Налидиксовая кислота / *Nalidixic acid*
Контрольные / *Control*				МПК, мг/л *MIC, mg/l*							
				допустимое по МУК 4.2.2495-09 / *permitted by MUK 4.2.2495-09*							
				1–4	0,5–4	0,5–2	2–8	0,03–0,12	0,004–0,016	0,5–2*	1–4
1	*Escherichia coli*		АТСС 25922	допустимое по рекомендации Liofilchem® [13] / *permissible according to the recommendation of Liofilchem*							
				НД	0,5–4	0,5–2	2–8	0.03–0.12	0,004–0,016	<0,5*	1–4
				Опытное / *Experienced*							
				1,5	4	2	6	0,032	0,016	0,19	2
				допустимое по МУК 4.2.2495–09 / *permitted by MUK 4.2.2495–09*							
2	*Y. pestis*	*pestis*	EV НИИЭГ	2–8	2–8	0,25–1	1–4	0,01–0,02	0,01–0,04	1–2	0,5–2
				Опытное / *Experienced*							
				6	24	1	12	0,012	0,094	0,25	≤ 2
Опытные				МПК, мг/л / *MIC, mg/l*							
1			50	12	8	3	24	0,008	0,19	0,25	0,75
2		*pestis*	112	12	24	4	8	0,012	0,25	0,19	1,5
3			581	8	16	4	16	0,016	0,25	0,064	0.75
4			531	16	16	1	6	0,012	0,064	0,25	0,75
5		*ca*	615	12	12	1	64	0,006	0,12	0,75	0,75
6			656	12	12	3	48	0,016	0,38	0,19	1,5
7	*Y. pestis*		1214	12	8	2	32	0,012	0,125	0,047	0,5
8			2	16	16	3	32	0,016	0,094	0,064	0,38
9			242	16	12	3	24	0,016	0,125	НД	1
10		*pestis*	256	12	19	3	24	0,016	0,094	НД	0,38
11			261	16	12	2	16	0,016	0,125	НД	0,5
12			1299	16	8	6	32	0,032	0,19	НД	0,75
13			1302	24	12	3	24	0,047	1	НД	4
14			1604	8	8	2	16	0,016	0,094	НД	1,5
Пределы / *Limits*		чувствительности / *sensitivity*		≤16	≤16	≤4	≤4	≤1	≤0,1	≤8	≤2
		Устойчивости / *resistance*		>64	>64	>16	>16	>4	>1	>32	>8

НД – нет данных; са – *centralasiatica* bv. altaica; * здесь и ниже в столбце значения по триметоприму; выше двойной черты штаммы 2020 г., ниже – 2021 г. выделения. / *НД – no data; са – centralasiatica bv. altaica; * here and below in the column are the values for trimethoprim; above the double line are the 2020 strains, below – the 2021 isolates.*

Мека-Меченко с соавт. [16] сообщили о положительных результатах испытаний HiComb™ MIC Test, содержавших хлорамфеникол. Очевидно, применение MIC-TEST strip Liofilchem® для *Y. pestis* будет возможным после дополнительного исследования.

Заключение

Таким образом, штаммы, выделенные в сибирских природных очагах чумы в 2016 и 2020–2024 гг., сохраняют высокую чувствительность к АБП, рекомендованным для

терапии и профилактического лечения чумы. Отмечена также их равномерная чувствительность к азитромицину на уровне МПК 2–4 мг/л, что свидетельствует о возможности его применения для лечения инфекции, вызванной возбудителем чумы из этих очагов, и требует дальнейших испытаний.

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding

No funding was received for conducting this study and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Токмакова Е.Г. – проведение исследований, написание статьи; Хвойнова И.Г., Архипенко С.С. – проведение исследований; Витязева С.А., Шипилова Д.Н. – подготовка штаммов к исследованию, проведение исследований; Вишняков В.А. – идея использования азитромицина, поиск литературы; Балахонов С.В. – планирование НИР, общее руководство и редакция статьи.

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

Tokmakova E.G. – conducting research, writing an article; Khvoinova I.G., Arkhipenko S.S. – conducting research; Vitiazeva S.A., Shipilova D.N.– preparation of strains for research, conducting research; Vishnyakov V.A. – the idea of using azithromycin, literature search; Balakhonov S.V. – R&D planning, general management and article editing.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Кутырев ВВ, Попова АЮ, Ежлова ЕБ, Демина ЮВ, Пакскина НД, Щучинов ЛВ, и др. Заболевание человека чумой в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге в 2014 г. Сообщение 1. Эпидемиологические и эпизоотологические особенности проявлений чумы в Горно-Алтайском высокогорном (Сайлюгемском) природном очаге чумы. Проблемы особо опасных инфекций. 2014;4:9-16. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16
2. Балахонов СВ, Попова АЮ, Мищенко АИ, Михайлов ЕП, Ежлова ЕБ, Демина ЮВ, и др. Случай заболевания человека чумой в Кош-Агачском районе Республики Алтай в 2015 г. Сообщение 1. Клинико-эпидемиологические и эпизоотологические аспекты. Проблемы особо опасных инфекций. 2016;1:55-60. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60
3. Корзун ВМ, Балахонов СВ, Косилко СА, Михайлов ЕП, Мищенко АИ, Денисов АВ, и др. Особенности эпизоотической и эпидемической активности Горно-Алтайского природного очага чумы в 2012–2016 годах. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2017;16(1):36-38. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-36-38
4. Балахонов СВ, Корзун ВМ, Денисов АВ, Ярыгина МБ, Холин АВ, Вержуцкий ДБ, и др. Трансграничный Сайлюгемский природный очаг чумы. Под ред. Балахонова СВ, Корзуна ВМ. Новосибирск: Наука, 2022.
5. Матросов АН, Щучинов ЛВ, Денисов АВ, Мищенко АИ, Рождественский ЕН, Слудский АА, и др. Профилактические мероприятия в Горно-Алтайском высокогорном природном очаге чумы в 2016 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2016;4:25-32. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-25-32
6. Балахонов СВ, Вержуцкий ДБ, Холин АВ, Базанова ЛП, Климов ВТ, Косилко СА, и др. Тувинский природный очаг чумы. Под ред. Балахонова СВ, Вержуцкого ДБ. Иркутск: Изд-во Иркутского государственного университета, 2019.
7. Балахонов СВ, Корзун ВМ, Чипанин ЕВ, Афанасьев МВ, Михайлов ЕП, Денисов АВ, и др. Горно-Алтайский природный очаг чумы. Под ред. Балахонова СВ, Корзуна ВМ. Новосибирск: Наука-Центр, 2014.
8. Dai R, He J, Zha X, Wang Y, Zhang X, Gao H, et al. A novel mechanism of streptomycin resistance in *Yersinia pestis*: Mutation in the *rpsL* gene. PLoS Negl Trop Dis. 2021; 15(4): e0009324. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009324
9. Хунданов ЛЕ, Шкурко ЕД, Купцевич ЕИ, Смирнова ЛА. Сравнительное изучение эффективности антибиотиков при лечении экспериментальной чумы. Доклады Иркутского противочумного института (ред. Степанченко АИ). Улан-Удэ, 1961;1:48-49.
10. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. Страчунский ЛС, Козлов СН. [Электронный ресурс]. Available at: http://www.antibiotics.ru/books/mach/ (дата обращения: 27.04.2026).
11. Веселов АВ, Козлов РС. Азитромицин: современные аспекты клинического применения. Клиническая микробиология и антимикробная терапия. 2006;8(1):18-32.
12. Smith MD, Vinh DX, Nguyen TT, Wain J, Thung D, White NJ. In vitro antimicrobial susceptibilities of strains of *Yersinia pestis*. Antimicrob Agents Chemother. 1995 Sep;39(9):2153-4. DOI: 10.1128/AAC.39.9.2153
13. Liofilchem®. Table no.1 MIC Test Strip Interpretative Criteria and Quality Control [Электронный ресурс]. Liofilchem®. Версия 28 от 27.11.2017. Available at: www.liofilchem.net/pdf/mic/tabella_interpretazione.pdf (дата обращения: 27.04.2026).
14. Lonsway DR, Urich SK, Heine HS, McAllister SK, Banerjee SN, Schriefer ME, et al. Comparison of Etest method with reference broth microdilution method for antimicrobial susceptibility testing of *Yersinia pestis*. J Clin Microbiol. 2011 May;49(5):1956-60. DOI: 10.1128/JCM.00142-11
15. Балахонов СВ, Белькова СА, Токмакова ЕГ, Хвойнова ИГ, Захлебная ОД. Чувствительность чумного микроба из сибирских природных очагов к антибактериальным препаратам *in vitro*. Клиническая лабораторная диагностика. 2013;4:36-40.

16. Мека-Меченко ТВ, Некрасова ЛЕ, Бегимбаева ЭЖ, Избанова УА, Далибаев ЖС, Лухнова ЛЮ, и др. Чувствительность к антибиотикам природных штаммов чумного микроба из некоторых очагов Среднеазиатского пустынного природного очага чумы. Medicine (Almaty). 2017;8(182):68-72.

References

1. Kutyrev VV, Popova AYu, Ezhlova EB, Demina YuV, Pakskina ND, Shchuchinov LV, et al. Infection of an Individual with Plague in the Gorno-Altaisk High-Mountain Natural Focus in 2014. Communication 1. Epidemiological and Epizootiological Peculiarities of Plague Manifestations in the Gorno-Altaisk High-Mountain (Sailyugemsky) Natural Plague Focus. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2014;4:9-16. DOI: 10.21055/0370-1069-2014-4-9-16 (In Russian).
2. Balakhonov SV, Popova AYu, Mishchenko AI, Mikhailov EP, Ezhlova EB, Demina YuV, et al. A Case of Human Infection with Plague in the Kosh-Agach Region of the Republic of Altai in 2015. Communication 1. Clinical-Epidemiological and Epizootiological Aspects. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2016;1:55-60. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-1-55-60 (In Russian).
3. Korzun VM, Balakhonov SV, Kosilko SA, Mikhailov EP, Mishchenko AI, Denisov AV, et al. Gorno-Altai Natural Plague Focus Epizootical and Epidemical Activity in 2012–2016. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2017;16(1):36-38. DOI: 10.31631/2073-3046-2017-16-1-36-38 (In Russian).
4. Balakhonov SV, Korzun VM, Denisov AV, Yarygina MB, Kholin AV, Verzhutsky DB, et al. Transboundary Saylugem Natural Plague Focus. Balakhonov SV, Korzun VM, eds. Novosibirsk: Nauka, 2022. (In Russian).
5. Matrosov AN, Shchuchinov LV, Denisov AV, Mishchenko AI, Rozhdestvensky EN, Sludsky AA, et al. Non-Specific Prophylaxis of Plague in the Gorno-Altai High-Mountain Natural Focus in 2016. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2016;4:25-32. DOI: 10.21055/0370-1069-2016-4-25-32 (In Russian).
6. Balakhonov SV, Verzhutsky DB, Kholin AV, Bazanova LP, Klimov VT, Kosilko SA, et al. Tuva Natural Plague Focus. Balakhonov SV, Verzhutsky DB, eds. Irkutsk: Irkutsk State University Publishing House, 2019. (In Russian).
7. Balakhonov SV, Korzun VM, Chipanin EV, Afanasev MV, Mikhaylov EP, Denisov AV, et al. Mountain-Altai Natural Plague Focus: Retrospective Analysis, Epizootological Activity, Current State. Balakhonov SV, Korzun VM, eds. Novosibirsk: Nauka-Center, 2014. (In Russian).
8. Dai R, He J, Zha X, Wang Y, Zhang X, Gao H, et al. A novel mechanism of streptomycin resistance in *Yersinia pestis*: Mutation in the *rpsL* gene. PLoS Negl Trop Dis. 2021;15(4):e0009324. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009324
9. Khundanov LE, Shkurko ED, Kuptsevich EI, Smirnova LA. A Comparative study of the effectiveness of antibiotics in the treatment of experimental plague. Reports of the Irkutsk Anti-Plague Institute (ed. Stepanchenko AI). Ulan-Ude, 1961;1:48-49. (In Russian).
10. Strachunsky LS, Kozlov SN. Modern Antimicrobial Chemotherapy: A Guide for Physicians. [Electronic resource]. Available at: http://www.antibiotics.ru/books/mach/ (accessed 27.04.2026). (In Russian).
11. Veselov AV, Kozlov RS. Azithromycin: Current Clinical Use. Clinical microbiology and antimicrobial therapy. 2006;8(1):18-32. (In Russian).
12. Smith MD, Vinh DX, Nguyen TT, Wain J, Thung D, White NJ. In vitro antimicrobial susceptibilities of strains of *Yersinia pestis*. Antimicrob Agents Chemother. 1995 Sep;39(9):2153-4. DOI: 10.1128/AAC.39.9.2153
13. Liofilchem®. Table no. 1 MIC Test Strip Interpretative Criteria and Quality Control [Electronic resource]. Liofilchem®. Version 28 from 11/27/2017. Available at: www.liofilchem.net/pdf/mic/tabella_interpretazione.pdf (accessed 04.27.2026).
14. Lonsway DR, Urich SK, Heine HS, McAllister SK, Banerjee ShN, Schriefer ME, et al. Comparison of Etest Method with Reference Broth Microdilution Method for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Yersinia pestis*. J Clin Microbiol. 2011;49(5):1956-1960. DOI: 10.1128/JCM.00142-11
15. Balakhonov SV, Belkova SA, Tokmakova YeG, Khvoiynova IG, Zakhlebnaya OD. The Sensitivity of Plague Agent from Siberian Natural Focuses of Disease to Antibacterial Preparations *in Vitro*. Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2013;4:36-40. (In Russian).
16. Meka-Mechenko TV, Nekrasova LE, Begimbayeva EZh, Izbanova UA, Dalibayev ZhS, Lukhnova Lyu, et al. Sensitivity to antibiotics of natural plague strains from some foci of Central Asian desert natural plague focus. Medicine (Almaty). 2017;8(182):68-72. (In Russian).

Информация о соавторах:

Хвойнова Ирина Геннадьевна, врач-бактериолог отдела Коллекция патогенных бактерий ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора

Архипенко Светлана Сергеевна, младший научный сотрудник отдела Коллекция патогенных бактерий ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора

Витязева Светлана Александровна, заведующий отделом микробиологии чумы ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора

Шипилова Дарья Николаевна, младший научный сотрудник отдела микробиологии чумы ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора

Вишняков Владимир Александрович, заведующий изолятором, врач-инфекционист ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Балахонов Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, директор ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Irina G. Khvoinova, Bacteriologist at the Department Collection of Pathogenic Bacteria, Irkutsk Anti-plague Research Institute of Siberia and Far East

Svetlana S. Arkhipenko, Junior Researcher at the Department Collection of Pathogenic Bacteria, Irkutsk Anti-plague Research Institute of Siberia and Far East

Svetlana A. Vitiazeva, Head of the Department of Plague Microbiology, Irkutsk Anti-plague Research Institute of Siberia and Far East

Daria N. Shipilova, Junior Researcher at the Department of Plague Microbiology, Irkutsk Anti-plague Research Institute of Siberia and Far East

Vladimir A. Vishnyakov, Head of the Isolation Ward, Infectious Disease Specialist, Irkutsk Anti-plague Research Institute of Siberia and Far East

Sergey V. Balakhonov, MD, PhD, DSc, Professor, Director of Irkutsk Anti-plague Research Institute of Siberia and Far East

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 84–93
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 84–93

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-84-93

Устойчивость к антимикробным препаратам изолятов *Salmonella* spp., *Listeria* spp. и *Staphylococcus aureus*, выделенных из продуктов питания в Санкт-Петербурге и Ленинградской области

И.А.Деревянченко[1,2], Л.А.Краева[2,3], Л.А.Кафтырева[2], Л.С.Ветрова[1,2]

[1]Восточный филиал ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербурге и Ленинградской области», Санкт-Петербург, Российская Федерация;
[2]ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация;
[3]ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Представлены результаты трехлетнего мониторинга (2022–2024 гг.) чувствительности к антимикробным препаратам (АМП) изолятов *Salmonella* spp., *Listeria* spp. и *Staphylococcus aureus*, выделенных из продуктов питания в Санкт-Петербурге и Ленинградской области. Установлено, что наиболее часто выделялись изоляты *Salmonella* spp., и почти половина их (49,7%) приходилась на *S. enterica* ser. Infantis, второе место по частоте встречаемости занимала *S. enterica* ser. Enteritidis (25,5%). Частота выделения *S. aureus* и *Listeria* spp. была примерно в 2 раза ниже таковой для *Salmonella* spp. Среди изолятов листерий по частоте встречаемости доминировали изоляты *L. monocytogenes* (50%) и несколько реже выявлялись *L. innocua* (38,2%). Чуть менее половины (41,2%) изолятов *Salmonella* spp. характеризовались одновременной резистентностью к трем группам антибиотиков: пенициллинам, цефалоспоринам и фторхинолонам. Полирезистентность к АМП у *S. aureus* встречалась чуть более чем у половины выделенных изолятов (51,9%), тогда как у *Listeria* spp. – у 23,5% изолятов и была в большей степени характерна для *L. innocua* в сравнении с *L. monocytogenes*. Резистентность *Salmonella* spp. к цефалоспоринам зависела от их типа: наибольшей она была к цефтазидиму (98%), наименьшей – к цефепиму (23%). Выделенные изоляты *Salmonella* spp. характеризовались высокой частотой резистентности к фторхинолону (71,6%). Изоляты *S. aureus* характеризовались наиболее высокой частотой резистентности к бензилпенициллину (81,8%), резистентность к терациклину, цефокситину и амоксиклаву встречалась примерно у половины выделенных изолятов (49,4–53,2%), тогда как к хлорамфениколу и ципрофлоксацину – только у 18,2–20,8% изолятов. Чуть менее половины изолятов *Listeria* spp. (38,2–44,1%) проявляли резистентность к меропенему, эритромицину и триметоприму, тогда как к антибиотикам пенициллинового ряда все они были чувствительны. Наиболее высокая частота резистентности к карбопенемам, макролидам и триметоприму была характерна для *L. innocua* в сравнении с *L. monocytogenes*.

Ключевые слова: бактерии, сальмонеллы, листерии, стафилококки, антибиотикорезистентность

Для цитирования: Деревянченко И.А., Краева Л.А., Кафтырева Л.А., Ветрова Л.С. Устойчивость к антимикробным препаратам изолятов *Salmonella* spp., *Listeria* spp. и *Staphylococcus aureus*, выделенных из продуктов питания в Санкт-Петербурге и Ленинградской области. Бактериология. 2026; 11(2): 84–93. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-84-93

Antibacterial resistance of *Salmonella* spp., *Listeria* spp., and *Staphylococcus aureus* isolates from food products in St. Petersburg and the Leningrad Region

I.A.Derevyanchenko[1,2], L.A.Kraeva[2,3], L.A.Kaftyreva[2], L.S.Vetrova[1,2]

[1]Eastern Branch of the Center for Hygiene and Epidemiology in St. Petersburg and the Leningrad Region, St. Petersburg, Russian Federation;
[2]Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology, St. Petersburg, Russian Federation;
[3]S.M.Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Для корреспонденции:

Краева Людмила Александровна, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией медицинской бактериологии ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»; профессор кафедры микробиологии ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М.Кирова» Министерства обороны Российской Федерации

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14
ORCID: 0000-0002-9115-3250

Статья поступила 31.01.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Lydmila A. Kraeva, MD, PhD, DSc, Professor, Head of the laboratory of medical bacteriology, Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology; Professor, Department of Microbiology, S.M.Kirov Military Medical Academy of the Ministry of Defense of the Russian Federation

Address: 14 Mira str., St. Petersburg, 197101, Russian Federation
ORCID: 0000-0002-9115-3250

The article was received 31.01.2026, accepted for publication 30.06.2026

The article details the outcomes of a three-year surveillance program (2022–2024) assessing the antimicrobial susceptibility of isolates belonging to *Salmonella* spp., *Listeria* spp., and *Staphylococcus aureus* recovered from food products in St. Petersburg and the Leningrad Region. *Salmonella* spp. were the most frequently identified pathogen, with *S. enterica* ser. *Infantis* representing the highest proportion (49.7%), followed by *S. enterica* ser. Enteritidis (25.5%). The incidence of *S. aureus* and *Listeria* spp. was observed to be roughly half that of *Salmonella* spp. Within the *Listeria* group, *L. monocytogenes* was the predominant species (50%), while *L. innocua* was detected with a lower prevalence (38.2%). Regarding resistance, nearly half (41.2%) of *Salmonella* spp. exhibited simultaneous resistance to three distinct antimicrobials: penicillins, cephalosporins, and fluoroquinolones. In *S. aureus*, polyresistance was present in slightly over half of the isolates (51.9%), while resistance was noted in 23.5% of *Listeria* spp. and was more characteristic of *L. innocua* than *L. monocytogenes*. Specific resistance patterns for *Salmonella* included high susceptibility to fluoroquinolones (71.6% resistance) and variable cephalosporin resistance, peaking with ceftazidime (98%) and reaching a low of 23% for cefepime. For *S. aureus*, resistance to benzylpenicillin was the most common (81.8%); resistance to tetracycline, cefoxitin, and amoxiclav occurred in approximately 49.4–53.2% of isolates, whereas resistance to chloramphenicol and ciprofloxacin was less prevalent (18.2–20.8%). Concerning *Listeria* spp., a resistance rate of 38.2–44.1% was observed for meropenem, erythromycin, and trimethoprim, yet all tested strains remained susceptible to penicillin antibiotics. Furthermore, *L. innocua* demonstrated a higher propensity for carbapenem, macrolide, and trimethoprim resistance when compared to *L. monocytogenes*.
Key words: bacteria, salmonella, listeria, staphylococci, antibiotic resistance

For citation: Derevyanchenko I.A., Kraeva L.A., Kaftyreva L.A., Vetrova L.S. Antibacterial resistance of *Salmonella* spp., *Listeria* spp., and *Staphylococcus aureus* isolates from food products in St. Petersburg and the Leningrad Region. Bacteriology. 2026; 11(2): 84–93. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-84-93

Инфекционные заболевания, несмотря на достижения современной фармакотерапии и совершенствование мер гигиены и профилактики, по-прежнему широко распространены и служат частой причиной летальности людей и животных. Так, *Staphylococcus aureus*, условно-патогенный микроорганизм, является причиной бактериальных инфекций, занимающих 1-е место по абсолютной смертности в 135 странах мира [1]. При этом до 40% взрослого населения планеты выступают в роли условно здоровых носителей этого микроорганизма. Устойчивость стафилококков к высоким концентрациям поваренной соли позволяет им долго сохраняться в различных пищевых продуктах, что увеличивает риск их поступления в организм людей с пищей.

Широко распространенными в окружающей среде патогенными микроорганизмами, способными вызывать пищевые токсикоинфекции с тяжелым течением, являются *Salmonella* spp. Сальмонеллез занимает 3-е место (после рота- и норовирусной инфекций) в структуре очагов групповой заболеваемости с фекально-оральным механизмом передачи инфекции [2] и 2-е место после *Campylobacter* в «рейтинге» бактериальных возбудителей инфекций, общих для человека и животных [3].

Немалую опасность для людей представляют и широко распространенные в окружающей среде бактерии рода *Listeria*, которые могут служить причиной листериоза. Несмотря на относительно редкую встречаемость этого заболевания среди населения, оно зачастую характеризуется тяжелым течением, осложняющимся возникновением менингоэнцефалита [4] и высокой летальностью (до 20–40% среди взрослого населения и >50% у новорожденных) [5]. Кроме того, широкое распространение листерий в окружающей среде, их уникальная пластичность и способность не только сохраняться, но и размножаться в инфицированных продуктах питания даже при низких температурах (+4…+7°С, типичных для холодильника) [6], в кислой среде [7], при высокой концентрации соли [8] и в условиях дефицита кислорода (в готовых продуктах в вакуумной упаковке) [9] обусловливают высокую вероятность их поступления в организм человека. При этом если ранее патогенным для человека считался только вид *L. monocytogenes*, то в последнее время в литературе стали описываться случаи листериозной инфекции, вызванные другими видами листерий, в т.ч. *L. ivanovii* [10], *L. seeligeri* [11], *L. innocua* [12], *L. welshimeri* [13], *L. grayi* [14].

Наряду с широким распространением патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в окружающей среде, возможной контаминацией ими продуктов питания большую опасность для людей и животных представляет повышение резистентности микроорганизмов к антибиотикам, которое отмечается среди возбудителей не только нозокомиальных, но и внебольничных инфекций и представляет социально-экономическую проблему. Вызывает обеспокоенность и тот факт, что у многих изолятов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов часто обнаруживается множественная антибиотикорезистентность, и большинство антибиотиков последнего поколения оказываются неэффективными. При этом полирезистентные штаммы вытесняют чувствительные и те, которые проявляют резистентность только к одному или нескольким антимикробным препаратам (АМП) [15]. В связи с этим мониторинг распространения видов патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах и оценка их чувствительности к антибиотикам не теряют своей актуальности.

Сравнительный анализ данных относительно резистентности патогенных и условно-патогенных микроорганизмов к АМП, полученных в разные периоды времени в России, затрудняется тем, что методические подходы к тестированию многих антибиотиков и критерии интерпретации в последние годы неоднократно изменялись не только в России, но и в мире. Документ, определяющий процедуру оценки чувствительности микроорганизмов к АМП (МУК 4.2.1890-04), был принят в России в 2004 г., основан на рекомендациях CLSI и является действующим в настоящее время [16]. Вместе с тем в 2025 г. были введены Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», основанные на рекомендациях EUCAST [17], которые внесли коррективы в трактовку результатов оценки антибиотикорезистентности микроорганизмов.

Целью настоящей работы явилось определение частоты встречаемости различных сероваров *Salmonella enterica* и

Listeria spp., а также *S. aureus* в пищевых продуктах в рамках трехлетнего мониторинга в Санкт-Петербурге и Ленинградской области, и оценка их чувствительности к антимикробным препаратам с использованием современных международных подходов.

Материалы и методы

За период трехлетнего мониторинга (с 2022 по 2024 г.) патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах в бактериологической лаборатории Восточного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в г. Санкт-Петербурге и Ленинградской области» было выделено 148 изолятов *Salmonella* spp., 77 изолятов *S. aureus* и 68 изолятов *Listeria* spp. Определение рода выделенных изолятов проводили микробиологическим методом, видовую их идентификацию – методом время-пролетной масс-спектрометрии на приборе Microflex LRF (Bruker Daltonics, Германия) и с помощью биохимических тестов.

Чувствительность к АМП исследуемых культур осуществляли диско-диффузионным методом с использованием агара Мюллера–Хинтон II (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия) и дисков фирмы Bio-Rad (Франция). Измерение диаметров зон подавления роста штаммов проводили на приборе-анализаторе ADAGIO (Bio-Rad, США). Список АМП, использованных для тестирования, соответствовал европейским рекомендациям [18] и включал для изолятов *Salmonella* spp. ампициллин, амоксициллин с клавулановой кислотой, меропенем, цефтазидим, цефотаксим, цефокситин, цефепим, ципрофлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин и нали-

Таблица 1. **Частота выделения изолятов *Salmonella* spp. из продуктов питания в 2022–2024 гг.**
Table 1. ***Frequency of isolation of Salmonella spp. isolates from food products in 2022–2024***

Группы и виды / *Groups and species*	Частота выделения (*n*/% от общего количества) / *Frequency of isolation (n/% of total)*	Частота обнаружения (*n*/% от общего количества) изолятов в продуктах / *Frequency of detection (n/% of total) of isolates in products*			
		Мясные (сырые) / *Meat (raw)*	Мясо домашней птицы / *Poultry*	Рыбные / *Fish*	Готовые блюда / *Ready meals*
Группа Group B	12/8,1	7/4,7	4/2,7	1/0,7	
S. enterica сер. Derby	5/3,4	4/2,7	1/0,7		
S. enterica сер. Bredeney	2/1,3	1/0,7		1/0,7	
S. enterica сер. Typhimurium	2/1,3	2/1,3			
S. enterica сер. Brandenburg	1/0,7		1/0,7		
S. enterica сер. Heidelberg	1/0,7		1/0,7		
S. enterica сер. Haifa	1/0,7		1/0,7		
Группа Group C1	83/56,4	11/7,4	71/48		1/0,7
S. enterica сер. Infantis	74/49,7	8/5,4	66/44,6		
S. enterica сер. Virchow	3/2,0		3/2,0		
S. enterica сер. Give	2/1,3	1/0,7	1/0,7		
S. enterica сер. Oranienburg	1/0,7	1/0,7			
S. enterica сер. Othmarschen	1/0,7				1/0,7
S. enterica сер. Montevideo	1/0,7	1/0,7			
S. enterica сер. Garoli	1/0,7		1/0,7		
Группа GroupC2	10/6,7	6/4,1	3/2,0		1/0,7
S. enterica сер. Rissen	3/2,0	3/2,0			
S. enterica сер. Goldcoast	2/1,3	1/0,7	1/0,7		
S. enterica сер. Muenchen	2/1,3		2/1,3		
S. enterica сер. Lindenburg	1/0,7	1/0,7			
S. enterica сер. Tshiongwe	1/0,7				1/0,7
S. enterica сер. Bovismorbificans	1/0,7	1/0,7			
Группа Group C4	1/0,7		1/0,7		
S. enterica сер. Ardwick	1/0,7		1/0,7		
Группа GroupD	40/27,5	10/6,8	23/14,2		10/6,8
S. enterica сер. Enteritidis	38/25,5	8/5,4	20/13,5		10/6,8
S. enterica сер. Panama	2,0	2/1,4	1/0,6		
Группа GroupE	1/0,7		1/0,7		
S. enterica сер. Newlands	1/0,7		1/0,7		
Всего изолятов *Salmonella* spp. в продуктах / *Total Salmonella spp. isolates in food products*		34/23,0	92/67,6	1/0,7	12/8,1

диксовую кислоту. Для изолятов *Listeria* spp. использовались пенициллин, ампициллин, меропенем, эритромицин, триметоприм. Для изолятов *S. aureus* применяли бензилпенициллин, амоксиклав, цефокситин, ципрофлоксацин, эритромицин, клиндамицин, тетрациклин, левомицетин. Для интерпретации полученных результатов использовали Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (версия 2025-01) [17].

Результаты исследования и их обсуждение

Частота встречаемости и чувствительность к АМП сероваров S. enterica. За период мониторинга (с 2022 по 2024 г.) из пищевых продуктов было выделено 148 изолятов *Salmonella* spp., принадлежащих к 6 группам: B, C1, C2, C4, D и E. Более половины выделенных изолятов (56,4%) относилось к группе C1 и ~50% изолятов было представлено *S. enterica* ser. Infantis (табл. 1). 2-е место по частоте выделе-

Таблица 2. **Частота выявления резистентности к антибиотикам у изолятов *Salmonella* spp., выделенных из продуктов питания в 2022–2024 гг.**
Table 2. ***Prevalence of the resistant Salmonella spp. isolates collected from foods in 2022–2024***

Группы и виды / *Groups and species*	Частота выявления резистентности к антибиотикам (*n*/%) / *Frequency of detection of antibiotic resistance (n/%)*										
	β-лактамные / *β-lactam*							хинолоны / *quinolones*			
	пенициллины / *penicillins*		карбапенемы / *carbapenems*	цефалоспорины / *cephalosporins*							
	ампициллин / *ampicillin*	амоксиклав / *amoxiclav*	меропенем / *meropenem*	цефтазидим / *ceftazidime*	цефотаксим / *cefotaxime*	цефокситин / *cefoxitin*	цефепим / *cefepime*	ципрофлоксацин / *ciprofloxacin*	офлоксацин / *ofloxacin*	пефлоксацин / *pefloxacin*	налидиксовая кислота / *nalidixic acid*
Группа / *Group B*											
S. enterica cep. Derby (*n* = 5)	2/40	4/80	0	5/100	3/60	5/100	1/20	4/80	4/80	4/80	5/100
S. enterica cep. Bredeney (*n* = 2)	2/100	2/100	2/100	2/100	2/100	2/100	2/100	2/100	2/100	2/100	2/100
S. enterica cep. Typhimurium (*n* = 2)	1/50	1/50	1/50	2/100	1/50	1/50	1/50	2/100	2/100	2/100	2/100
S. enterica cep. Brandenburg (*n* = 1)	1/100	1/100	0	1/100	0	1/100	0	0	0	0	0
S. enterica cep. Heidelberg (*n* = 1)	0	1/100	0	1/100	0	1/100	0	0	0	0	0
S. enterica cep. Haifa (*n* = 1)	1/100	1/100	1/100	1/100	0	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100
Группа / *Group C1*											
S. enterica cep. Infantis (*n* = 74)	42/56,8	44/59,5	20/27	72/97,3	33/45	55/74,3	15/20,3	53/71,6	54/73	58/78,4	66/89,2
S. enterica cep. Virchow (*n* = 3)	0	1/33,3	0	3/100	2/66,7	3/100	0	3/100	3/100	3/100	3/100
S. enterica cep. Give (*n* = 2)	1/50	1/50	0	2/100	0	2/100	0	0	0	0	0
S. enterica cep. Oranienburg (*n* = 1)	0	0	0	1/100	0	0	0	0	0	0	0
S. enterica cep. Othmarschen (*n* = 1)	1/100	0	0	1/100	0	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100
Salmonella cep. Montevideo (*n* = 1)	1/100	1/100	0	1/100	0	1/100	0	0	0	0	0
S. enterica cep. Garoli (*n* = 1)	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100	1/100
Группа *GroupC2*											
S. enterica Rissen (*n* = 3)	3/100	3/100	1/33,3	3/100	2/66,7	3/100	2/66,7	1/33,3	1/33,3	1/33,3	1/33,3
S. enterica Goldcoast (*n* = 2)	2/100	2/100	1/50	2/100	0	2/100	0	2/100	2/100	2/100	2/100
S. enterica Muenchen (*n* = 2)	1/50	2/100	0	2/100	0	2/100	0	1/50	1/50	1/50	1/50
S. enterica Lindenburg (*n* = 1)	0	0	0	1/100	0	1/100	0	0	0	0	0
S. enterica Tshiongwe (*n* = 1)	0	1/100	0	1/100	0	1/100	0	1/100	1/100	1/100	1/100
S. enterica Bovismorbificans (*n* = 1)	1/100	1/100	0	1/100	0	1/100	0	0	0	1/100	1/100
Группа *Group C4*											
S. enterica Ardwick (*n* = 1)	0	1/100	0	1/100	0	1/100	0	1/100	1/100	1/100	0
Группа *Group D*											
S. enterica Enteritidis (*n* = 38)	23/60,5	27/71,1	8/21,1	37/97,4	10/26,3	23/60,5	10/26,3	17/44,7	17/44,7	24/63,2	16/42,1
S. enterica Panama (*n* = 3)	2/66,7	3/100	0	3/100	0	3/100	0	2/66,7	2/66,7	2/66,7	1/33,3
Группа GroupE											
S. enterica Newlands (*n* = 1)	1/100	0	0	1/100	1/100	1/100	0	1/100	1/100	1/100	1/100
Всего / *Total* (*n* = 148)	85/57,4	97/65,5	34/23	145/98	55/37,2	112/75,7	34/23	93/62,8	91/61,5	106/71,6	104/70,3

ния (25,5%) приходилось на *S. enterica* ser. Enteritidis (группа D). Наиболее часто изоляты *Salmonella* spp. обнаруживались в сыром мясе домашней птицы, на 2-м месте по частоте выделения изолятов сальмонелл были сырые мясные полуфабрикаты (табл. 1). Представляет большую опасность факт выделения сальмонелл из готовых к употреблению пищевых продуктов: кулинарных и кондитерских изделий. Частота обнаружения изолятов *Salmonella* spp. в готовых блюдах составила 8,1%, при этом большая часть этих изолятов относилась к *S. enterica* ser. Enteritidis.

Анализ устойчивости выделенных изолятов сальмонелл к антибиотикам показал, что чуть менее их половины (41,2%) характеризовались одновременной резистентностью к 3 группам антибактериальных средств: пенициллинам, цефалоспоринам и фторхинолонам. Менее трети изолятов (23%) проявляли устойчивость к антибиотику резервной группы – меропенему (см. табл. 2), что согласуется с результатами других авторов [19], указывающих на невысокую частотурезистентности сальмонелл к карбапенемам.

Чуть более половины выделенных изолятов (57,4%) характеризовались устойчивостью к ампициллину, при этом 28,2% этих штаммов были чувствительны к амоксиклаву, что говорит в пользу продукции ими β-лактамаз класса А. Примерно 1/3 изолятов (30,9%), проявляющих устойчивость к амоксициллину-клавуланату, были чувствительны к ампициллину, но при этом характеризовались устойчивостью к цефокситину и чувствительностью к цефепиму. Данный факт косвенно свидетельствует о продукции этими штаммами β-лактамаз AmpC-типа, экспрессию которых может стимулировать клавулановая кислота.

Чувствительность выделенных изолятов сальмонелл к цефалоспоринам зависела от типа антибиотика. Наиболее низкой она была для цефтазидима (98% изолятов проявляли к нему устойчивость), что согласуется с литературными данными относительно низкой эффективности цефтазидима в лечении сальмонеллезов. При этом все изоляты сальмонелл, проявляющие устойчивость к ампициллину, были устойчивы и к цефтазидиму. Резистентность выделенных изолятов сальмонелл к цефотаксиму и цефепиму встречалась гораздо реже – в 37,2 и 23% случаев соответственно (табл. 2). При этом штаммы, резистентные к цефокситину, проявляли чувствительность к цефепиму.

Резистентность выделенных изолятов сальмонелл к антибиотикам фторхинолонового ряда оказалась высокой и составила от 61,5% (для офлоксацина) до 71,6% (для пефлоксацина). При этом устойчивость к пефлоксацину у 8,5% изолятов сочеталась с чувствительностью к офлоксацину и ципрофлоксацину. Между тем, согласно рекомендациям EUCAST v.4,0, при нечувствительности штаммов *Salmonella* spp. к пефлоксацину *in vitro* они будут нечувствительны и к другим фторхинолонам *in vivo*. Следовательно, более показательным является анализ чувствительности изолятов сальмонелл к пефлоксацину *in vitro*, который позволил выявить больше нечувствительных штаммов, чем тест с офлоксацином и ципрофлоксацином (см. табл. 2). Изоляты сальмонелл, резистентные к налидиксовой кислоте (13%), проявляли пограничные значения чувствительности к пефлоксацину, что говорит о мутациях в гене *gyrA*. Интересен также тот факт, что у 13 изолятов, чувствительных к налидиксовой кислоте, выявлялась резистентность к пефлоксацину, что косвенно указывает на редкие плазмидные механизмы резистентности, которые налидиксовая кислота не выявляет [20].

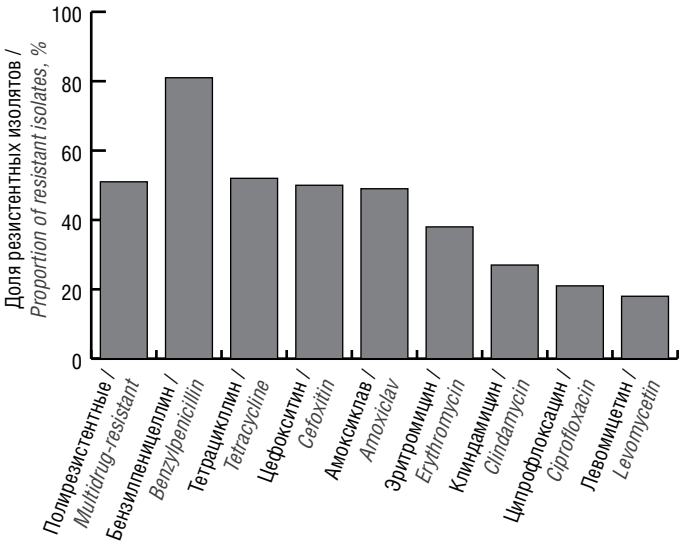


Рис. 1. **Антибиотикорезистентность изолятов *S. aureus*, выделенных из продуктов питания в 2022–2024 гг.**
Fig. 1. ***Antibiotic resistance of S. aureus isolates from food products in 2022–2024.***

Весьма настораживающим фактом является то, что примерно у трети изолятов сальмонелл (31,8%) выявлялась сочетанная резистентность к фторхинолонам и цефалоспоринам, которые рекомендованы для лечения сальмонеллезов [21].

Частота встречаемости и чувствительность к АМП изолятов S. aureus. За период мониторинга (с 2022 по 2024 г.) из готовых пищевых продуктов было выделено 77 изолятов *S. aureus*, подавляющая часть которых (91%) была изолирована из кулинарных изделий, 9% – из кондитерских изделий. Большая часть этих изолятов (81,8%) проявляла резистентность к бензилпенициллину, но при этом 39,7% этих изолятов оказались чувствительными к цефокситину и амоксиклаву, что косвенно указывает на продукцию ими пенициллиназы. В целом резистентность к амоксиклаву встречалась у 49,4% выделенных изолятов (рис. 1).

Устойчивыми к цефокситину оказались 50,6% изолятов *S. aureus*, что говорит в пользу их метицилин-резистентности. Все устойчивые к цефокситину изоляты проявляли устойчивость и к бензилпенициллину. Большинство устойчивых к цефокситину изолятов (76,9%) проявляли антибиотикорезистентность к ≥3 АМП. В целом полирезистентность к АМП отмечалась примерно у половины изолятов *S. aureus* (51,9%).

Чуть более половины выделенных изолятов *S. aureus* (53,2%) оказались резистентными к тетрациклину. Резистентность к макролидам (эритромицину) встречалась реже – менее чем у половины выделенных изолятов (37,7%). У части изолятов *S. aureus*, устойчивых к эритромицину, но при этом чувствительных к клиндамицину (11,7% от всех изолятов и 31% от изолятов, устойчивых к эритромицину), в тесте определения перекрестной резистентности к этим антибиотикам (при расположении дисков на расстоянии 15 мм) обнаруживался D-антагонизм между эритромицином

Таблица 3. **Частота выделения изолятов *Listeria* spp. из продуктов питания в 2020–2024 гг.**
Table 3. ***Frequency of isolation of Listeria spp. isolates from food products in 2020–2024***

Виды / *Species*	Частота выделения (*n*/% от общего количества) / *Frequency of isolation (n/% of total)*	Частота обнаружения (*n*/% от общего количества) изолятов в продуктах / *Frequency of detection (n/% of total) of isolates in products*				
		Мясные (сырые) / *Meat (raw)*	Мясо домашней птицы / *Poultry*	Рыбные / *Fish*	Сырое молоко / *Raw milk*	Готовые блюда / *Ready meals*
L. monocytogenes	34/50	13/19,1	6/8,8	9/13,2	5/7,4	2/2,9
L. innocua	26/38,2	6/8,8	2/2,9	1/1,5	16/23,5	1/1,5
L. welshimeri	8/11,8	4/5,9	0	0	0	4/5,9
Всего изолятов *Listeria* spp. в продуктах (*n*/%) / *Total Listeria spp. isolates in food products*		23/33,8	8/11,8	10/14,7	21/30,9	7/10,3

и клиндамицином, указывающий в пользу индуцибельной резистентности к клиндамицину.

Устойчивость изолятов *S. aureus* к фторхинолонам II поколения (ципрофлоксацину) и фениколам (левомицетину) встречалась реже, чем к макролидам – у 20,8 и 18,2% изолятов соответственно (рис. 1).

Таким образом, примерно у половины выделенных из пищевых продуктов изолятов *S. aureus* выявлена полирезистентность к антибиотикам, наиболее низкая частота устойчивости отмечена к фениколам и фторхинолонам.

Частота встречаемости и чувствительность к АМП изолятов *Listeria* spp. За трехлетний период мониторинга из пищевых продуктов было выделено 68 изолятов *Listeria* spp., из которых половина (50%) приходилась на *L. monocytogenes* и чуть меньше половины (38,2%) – на *L. innocua*, остальные 11,8% составляла *L. welshimeri* (табл. 3). Наиболее часто изоляты листерий выделяли из мясных продуктов и сырого молока (30,9–33,8%), гораздо реже – из мяса домашней птицы, замороженной рыбы и готовых блюд (10,3–14,7%). Наиболее часто *L. monocytogenes* обнаружи-

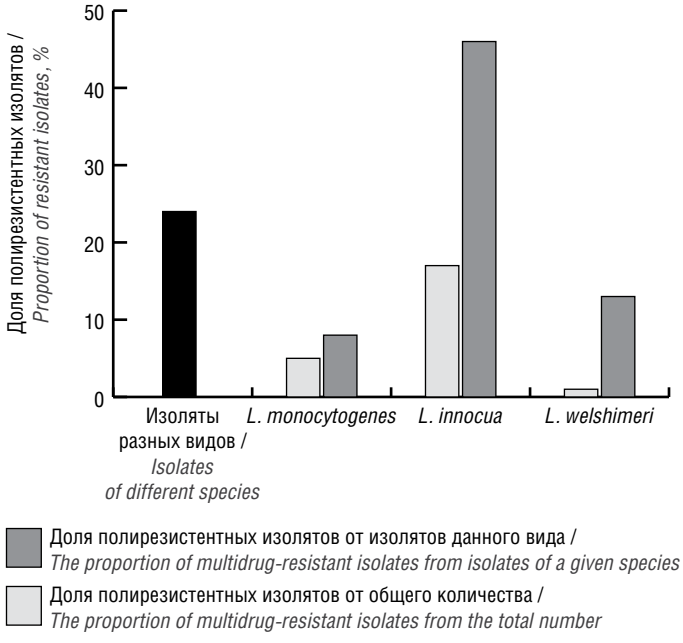


Рис. 2. **Частота выделения изолятов *Listeria* spp. с множественной антибиотикорезистентностью из продуктов питания в 2022–2024 гг.**
Fig. 2. ***Frequency of isolation of Listeria spp. isolates with multiple antibiotic resistance from food products in 2022–2024.***

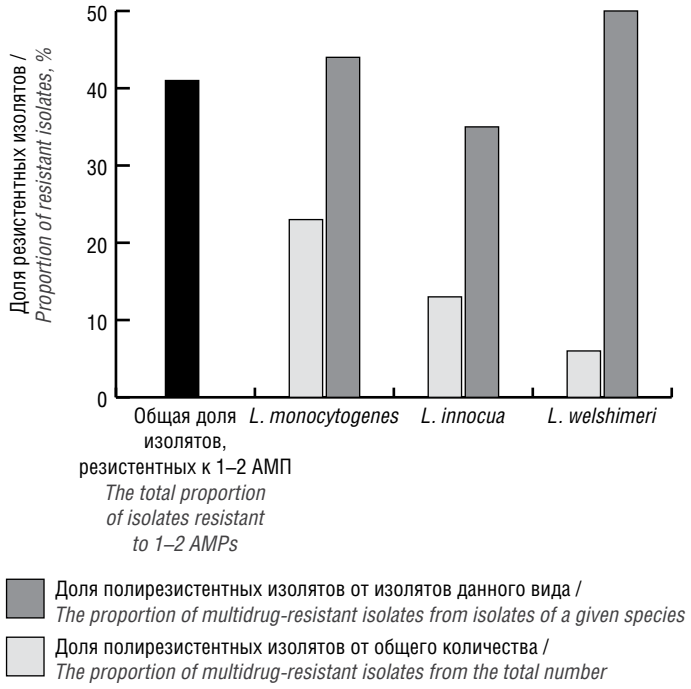


Рис. 3. **Частота выявления резистентности к 1–2 АМП у изолятов *Listeria* spp., выделенных из продуктов питания в 2022–2024 гг.**
АМП – антимикробный препарат.
Fig. 3. ***Frequency of detection of resistance to 1–2 antimicrobial medicine in Listeria spp. isolates isolated from food products in 2022–2024.***
AMP – antimicrobial medicine.

валась в сырых мясных продуктах, *L. innocua* – в сыром молоке (табл. 3).

Резистентность к ≥3 АМП проявляли 23,5% листерий, при этом большая часть полирезистентных изолятов приходилась на *L. innocua* (17,6% от общего количества изолятов *Listeria* spp. и 46,2% от количества изолятов *L. innocua*), тогда как у *L. monocytogenes* она встречалась гораздо реже – всего у 3 изолятов, что составляет 3,3% от общего количества выделенных изолятов листерий и 8,8% от изолятов *L. monocytogenes* (рис. 2). У *L. welshimeri* множественная антибиотикорезистентность встречалась только у 1 выделенного изолята, что составляет 1,5% от общего количества выделенных изолятов листерий и 12,5% от количества изолятов *L. welshimeri*.

Резистентность к 1–2 АМП обнаруживалась гораздо чаще, чем полирезистентность, – у 41,2% изолятов листерий

Таблица 4. **Частота выявления резистентности к антибиотикам у изолятов *Listeria* spp., выделенных из продуктов питания в 2022–2024 гг.**
Table 4. ***Frequency of detection of antibiotic resistance in Listeria spp. isolates recovered from food products in 2022–2024***

Виды / *Species*	Частота выявления резистентности к антибиотикам (*n*/%) / *Frequency of detection of antibiotic resistance (n/%)*				
	β-лактамные / *β-lactam*			Макролиды / *Macrolides*	Ингибитор дигидрофолатредуктазы / *Dihydrofolate reductase inhibitor*
	пенициллиновые / *penicillin*		карбопенемы / *carbapenems*		
	пенициллин / *penicillin*	ампициллин / *ampicillin*	меропенем / *meropenem*	эритромицин / *erythromycin*	триметоприм / *trimethoprim*
L. monocytogenes (*n* = 34)	0	0	13/38,2	5/14,7	10/29,4
L. innocua (*n* = 26)	0	0	15/57,7	18/69,2	15/57,7
L. welshimeri (*n* = 8)	0	0	2/25	3/37,5	3/37,5
Общая частота резистентности различных изолятов *Listeria* spp. к антибиотикам / *Overall frequency of antibiotic resistance of different Listeria spp. isolates (n = 68)*	0	0	30/44,1	26/38,2	28/41,2

(рис. 3). При этом наиболее часто устойчивость к 1–2 антибиотикам встречалась у *L. monocytogenes* (22,1% от общего количества изолятов и 44,1% от количества изолятов данного вида). Резистентность к 1–2 антибиотикам у *L. welshimeri* встречалась всего у 4 изолятов (5,9% от общего количества изолятов *Listeria* spp.), но в связи с малочисленностью изолятов *L. welshimeri* частота встречаемости такой антибиотикорезистентности составила 50% от количества изолятов данного вида.

Анализ чувствительности выделенных изолятов *Listeria* spp. к различным АМП показал абсолютную чувствительность всех выделенных изолятов к антибиотикам пенициллиновой группы (табл. 4). Вместе с тем к β-лактаму меропенему, выступающему в роли антибиотика резервной группы, у части изолятов наблюдалась резистентность, особенно часто встречающаяся у *L. innocua* (57,7% изолятов от общего количества изолятов данного вида, табл. 4). В целом устойчивость к меропенему была характерна для почти половины изолятов *Listeria* spp. (44,1%, см. табл. 4).

Резистентность листерий к макролидам и триметоприму была сопоставима с таковой к меропинему (табл. 4). При этом, как и в случае с меропенемом, наиболее часто эта резистентность встречалась у *L. innocua* (у 69,2% изолятов – к эритромицину, у 57,7% – к триметоприму).

Данные об относительно высокой частоте антибиотикорезистентности у изолятов *L. innocua* согласуются с результатами других авторов [22], но вызывают настороженность, поскольку *L. monocytogenes* и *L. innocua* являются наиболее распространенными видами рода *Listeria*, связанными в строгом эколого-физиологическом и генетическом смысле [23], и сравнительно высокое геномное сходство между *L. innocua* и *L. monocytogenes*, а иногда и их сосуществование в сходных экологических нишах, может предоставить возможность для переноса генов устойчивости или вирулентности [24]. Несмотря на то, что устойчивость к АМП у *L. monocytogenes* встречается реже, чем у *L. innocua*, последняя может образовывать резервуар генов устойчивости, которые могут передаваться между видами бактерий, включая передачу патогенной *L. monocytogenes* [22].

Обсуждение результатов. Подводя итог результатам трехлетнего мониторинга патогенных и условно-патогенных микроорганизмов в продуктах питания, необходимо отметить следующие факты. Наиболее часто из продуктов питания изолировали представителей *Salmonella* spp., и почти половина этих изолятов (49,7%) приходилась на *S. enteris* Infantis, 2-е место по частоте встречаемости занимала *S. enteris* Enteritidis (25,5%), тогда как изоляты других видов встречались редко – в 0,7–3,4% случаев. Для изолятов *Salmonella* spp. была характерна высокая частота резистентности к АМП: чуть менее половины изолятов (41,2%) характеризовались одновременной резистентностью к 3 группам антибактериальных средств: пенициллинам, цефалоспоринам и фторхинолонам, которые являются препаратами выбора для лечения сальмонеллеза. Резистентность *Salmonella* spp. к цефалоспориновым антибиотикам зависела от типа цефалоспорина: наибольшей она была для цефтазидима (98%), наименьшей – для цефепима (23%). Выделенные изоляты характеризовались высокой частотой резистентности к антибиотикам фторхинолонового ряда (резистентность к пефлоксацину наблюдалась у 71,6% изолятов).

Частота выделения *S. aureus* и *Listeria* spp. была примерно в 2 раза ниже таковой для *Salmonella* spp. Среди изолятов листерий по частоте встречаемости доминировали изоляты *L. monocytogenes* (50%), несколько реже выявлялись *L. innocua* (38,2%). Полирезистентность к АМП у *S. aureus* встречалась чуть более чем у половины выделенных изолятов (51,9%), что было сопоставимо с частотой полирезистентности у *Salmonella* spp. (41,2% изолятов), тогда как полирезистентность у *Listeria* spp. встречалась гораздо реже (23,5% изолятов) и была в большей степени характерна для *L. innocua* в сравнении с *L. monocytogenes*.

Изоляты *S. aureus* характеризовались наиболее высокой частотой резистентности к бензилпенициллину (81,8%), резистентность к тетрациклину, цефокситину и амоксиклаву встречалась примерно у половины выделенных изолятов (49,4–53,2%), тогда как к хлорамфениколу и ципрофлоксацину большая часть изолятов была чувствительной и резистентность отмечалась только в 18,2–20,8% случаев.

Чуть менее половины изолятов *Listeria* spp. проявляли резистентность к меропенему, эритромицину и триметоприму (38,2–44,1%), тогда как к антибиотикам пенициллинового

ряда все они были чувствительны. Наиболее высокая частота резистентности к карбопенемам, макролидам и триметоприму была характерна для *L. innocua* в сравнении с *L. monocytogenes*.

С учетом высокой смертности людей от антибиотикорезистентных штаммов патогенных бактерий мониторинг антибиотикорезистентности изолятов патогенных и условно-патогенных бактерий, выделенных от человека, сельскохозяйственных животных, пищевых продуктов и внешней среды, должен быть неотъемлемой частью эпидемиологического надзора в Российской Федерации.

Заключение

1. Наиболее часто из продуктов питания выделялись изоляты *Salmonella* spp., и почти половина этих изолятов (49,7%) приходилась на *S. enteris Infantis*, 2-е место по частоте встречаемости занимала *S. enteris* Enteritidis (25,5%), тогда как изоляты других видов встречались редко – в 0,7–3,4% случаев. Частота выделения *S. aureus* и *Listeria* spp. была примерно в 2 раза ниже таковой для *Salmonella* spp. Среди изолятов листерий по частоте встречаемости доминировали изоляты *L. monocytogenes* (50%), несколько реже выявлялись *L. innocua* (38,2%).

2. Чуть менее половины (41,2%) изолятов *Salmonella* spp. характеризовались одновременной резистентностью к 3 группам антибактериальных средств: пенициллинам, цефалоспоринам и фторхинолонам, которые являются препаратами выбора для лечения сальмонеллеза. Полирезистентность к антимикробным препаратам у *S. aureus* встречалась чуть более чем у половины выделенных изолятов (51,9%), тогда как у *Listeria* spp. она встречалась гораздо реже (23,5% изолятов) и была в большей степени характерна для *L. innocua* в сравнении с *L. monocytogenes*.

3. Резистентность *Salmonella* spp. к цефалоспориновым антибиотикам зависела от типа цефалоспорина: наибольшей она была для цефтазидима (98%), наименьшей – для цефепима (23%). Выделенные изоляты характеризовались высокой частотой резистентности для антибиотиков фторхинолонового ряда (резистентность к пефлоксацину наблюдалась у 71,6% изолятов).

4. Изоляты *S. aureus* характеризовались наиболее высокой частотой резистентности к бензилпенициллину (81,8%), резистентность к тетрациклину, цефокситину и амоксиклаву встречалась примерно у половины выделенных изолятов (49,4–53,2%), тогда как к хлорамфениколу и ципрофлоксацину большая часть изолятов была чувствительной и резистентность отмечалась только у 18,2–20,8% изолятов.

5. Чуть менее половины изолятов *Listeria* spp. (38,2–44,1%) проявляли резистентность к меропенему, эритромицину и триметоприму, тогда как к антибиотикам пенициллинового ряда все они были чувствительны. Наиболее высокая частота резистентности к карбопенемам, макролидам и триметоприму была характерна для *L. innocua* в сравнении с *L. monocytogenes*.

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding

No funding was received for conducting this study and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

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 this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. GBDAR Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 – G. B. D. A. R. Lancet. 2022;400(10369):2221-2248. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)02185-7
2. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2018 г.: государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2019. Режим доступа: https://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2018-godu.pdf
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Salmonellosis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2019. Available at: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/ documents/AER_for_2016-salmonellosis.pdf
4. Koopmans MM, Bijlsma MW, Brouwer M.C., van de Beek D., van der Ende A. *Listeria monocytogenes* meningitis in the Netherlands, 1985–2014: A nationwide surveillance study. The Journal of infection. 2017;75(1):12-19. DOI: 10.1016/j.jinf.2017.04.004

5. Олещенко ЕП, Алферова ЕВ. Листерии как возбудители пищевых инфекций. Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2012;3-4:211-212.
6. NicAogain K, O'Byrne CP. The role of stress and stress adaptations in determining the fate of the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* in the food Chain. Frontiers Microbiology. 2016;7(1865):1-16. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01865
7. O'Driscoll B, Gahan CGM, Hill C. Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes*: isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. Appl Environ Microbiol. 1996;62(5):1693-1698. DOI: 10.1128/aem.62.5.1693-1698.1996
8. Hwang C-A, Sheen S, Juneja VK. Effect of salt, smoke compound, and temperature on the survival of *Listeria monocytogenes* in salmon during simulated smoking processes. J Food Sci. 2009;74(9):522-529. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009. 01377.x
9. Becker B, Schuler S. Schnellnachweis von *Listeria monocytogenes* in Fleischerzeugnissen. Vergleichende Untersuchungen mittels automatischer PCR und Real-Time-PCR. Fleischwirtschaft. 2007;87(7):103-106.
10. den Bakker HC, Cummings CA, Ferreira V, Vatta P, Orsi RH, Degoricija L, et al. Comparative genomics of the bacterial genus *Listeria*: Genome evolution is characterized by limited gene acquisition and limited gene loss. BMC Genomics. 2010;11(1):688-708. DOI: 10.1186/1471-2164-11-688
11. Rocourt J, Hof H, Schrettenbrunner A, Malinverni R, Bille J. Acute purulent *Listeria seelingeri* meningitis in an immunocompetent adult. Schweiz Med Wochenschr. 1986 Feb 22;116(8):248-51. (In French).
12. Liao Y, Liu L, Zhou H, Fang F, Liu X. Case Report: Refractory Listeria innocua Meningoencephalitis in a Three-Year-Old Boy. Front Pediatr. 2022;10:857900-857905. DOI: 10.3389/fped.2022.857900
13. Andre P, Genicot A. First isolation of *Listeria welshimeri* in a human. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A. 1987 Mar;263(4):605-6. (In French).
14. Salimnia H, Patel D, Lephart PR, Fairfax MR, Chandrasekar PH. *Listeria grayi*: vancomycin-resistant, gram-positive rod causing bacteremia in a stem cell transplant recipient. Transpl. Infect Dis. 2010;12(6):526-528. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2010.00539.x
15. Козлов РС. Селекция резистентных микроорганизмов: концепция «параллельного ущерба». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2010;12(4):284-294.
16. Методические указания «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». МУК 4.2.1890-04. Утверждено Главным государственным санитарным врачом РФ 04.03.2004. Режим доступа: http://docs.cntd.ru/document/1200038583
17. Методические указания «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Версия 2025-01. Год утверждения (частота пересмотра): 2025 (пересмотр ежегодно). МАКМАХ, СГМУ: Смоленск; 2025.
18. European Centre for Disease Prevention and Control. Salmonellosis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2019. Available at: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/ documents/AER_for_2016-salmonellosis.pdf
19. Егорова СА, Кафтырева ЛА, Помазанов ВВ. Современные тенденции развития устойчивости бактерий рода *Salmonella* к клинически значимым антибиотикам (обзор литературы). Клиническая лабораторная диагностика. 2020;65(5):308-315. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-5-308-315
20. Егорова СА, Макарова МА, Забровская АВ, Матвеева ЗН, Сужаева ЛВ, Войтенкова ЕВ, и др. Многообразие механизмов антибиотикорезистентности сальмонелл (обзор литературы). Инфекция и иммунитет. 2011;1(4):303-310.
21. Crump JA, Sjölund-Karlsson M, Gordon MA, Parry CM. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive *Salmonella* infections. Clinical Microbiology Reviews. 2015;28(4):901-937. DOI: 10.1128/CMR.00002-15
22. Gómez D, Azón E, Marco N, Carramiñana JJ, Rota C, Ariño A, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and Listeria innocua from meat products and meat-processing environment. Food Microbiol. 2014;42:61-65. DOI: 10.1016/j.fm.2014.02.017
23. Kaszoni-Rückerl I, Mustedanagic A, Muri-Klinger S, Brugger K, Wagner KH, Wagner M, et al. Predominance of Distinct *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* in Recurrent Contamination Events at Dairy Processing Facilities. Microorganisms. 2020;8(2):234. DOI: 10.3390/microorganisms8020234
24. Li M, Yan S, Fanning S, Li F, Xu J. Whole Genome Analysis of Three Multi-Drug Resistant *Listeria innocua* and Genomic Insights Into Their Relatedness With Resistant *Listeria monocytogenes*. Front. Microbiol. 2021;12:694361-69436. DOI: 10.3389/fmicb.2021.694361

References

1. GBDAR Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 – G. B. D. A. R. Lancet. 2022;400(10369):2221-2248. DOI: 10.1016/S0140-6736(22)02185-7
2. On the state of sanitary and epidemiological well-being of the population in the Russian Federation in 2018: state report. Moscow: Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, 2019. Available at: https://rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/798/gosudarstvennyy-doklad-o-sostoyanii-sanitarno_epidemiologicheskogo-blagopoluchiya-naseleniya-v-rossiyskoy-federatsii-v-2018-godu.pdf (In Russian).
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Salmonellosis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2019. Available at: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/ documents/AER_for_2016-salmonellosis.pdf
4. Koopmans MM, Bijlsma MW, Brouwer M.C., van de Beek D., van der Ende A. *Listeria monocytogenes* meningitis in the Netherlands, 1985–2014: A nationwide surveillance study. The Journal of infection. 2017;75(1):12-19. DOI: 10.1016/j.jinf.2017.04.004
5. Oleshchenko EP, Alferova EV. Listeria as causative agents of food borne infections. Health. Medical Ecology. Science. 2012;3-4:211-212. (In Russian).
6. NicAogain K, O'Byrne CP. The role of stress and stress adaptations in determining the fate of the bacterial pathogen *Listeria monocytogenes* in the food Chain. Frontiers Microbiology. 2016;7(1865):1-16. DOI: 10.3389/fmicb.2016.01865
7. O'Driscoll B, Gahan CGM, Hill C. Adaptive acid tolerance response in *Listeria monocytogenes*: isolation of an acid-tolerant mutant which demonstrates increased virulence. Appl Environ Microbiol. 1996;62(5):1693-1698. DOI: 10.1128/aem.62.5.1693-1698.1996
8. Hwang C-A, Sheen S, Juneja VK. Effect of salt, smoke compound, and temperature on the survival of *Listeria monocytogenes* in salmon during simulated smoking processes. J Food Sci. 2009;74(9):522-529. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2009. 01377.x
9. Becker B, Schuler S. Schnellnachweis von *Listeria monocytogenes* in Fleischerzeugnissen. Vergleichende Untersuchungen mittels automatischer PCR und Real-Time-PCR. Fleischwirtschaft. 2007;87(7):103-106.
10. den Bakker HC, Cummings CA, Ferreira V, Vatta P, Orsi RH, Degoricija L, et al. Comparative genomics of the bacterial genus *Listeria*: Genome evolution is characterized by limited gene acquisition and limited gene loss. BMC Genomics. 2010;11(1):688-708. DOI: 10.1186/1471-2164-11-688
11. Rocourt J, Hof H, Schrettenbrunner A, Malinverni R, Bille J. Acute purulent *Listeria seelingeri* meningitis in an immunocompetent adult. Schweiz Med Wochenschr. 1986 Feb 22;116(8):248-51. (In French).
12. Liao Y, Liu L, Zhou H, Fang F, Liu X. Case Report: Refractory *Listeria innocua* Meningoencephalitis in a Three-Year-Old Boy. Front Pediatr. 2022;10:857900-857905. DOI: 10.3389/fped.2022.857900
13. Andre P, Genicot A. First isolation of *Listeria welshimeri* in a human. Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg A. 1987 Mar;263(4):605-6. (In French).
14. Salimnia H, Patel D, Lephart PR, Fairfax MR, Chandrasekar PH. *Listeria grayi*: vancomycin-resistant, gram-positive rod causing bacteremia in a stem cell

transplant recipient. Transpl Infect Dis. 2010;12(6):526-528. DOI: 10.1111/j.1399-3062.2010.00539.x
15. Kozlov RS. Selection of resistance associated with the use of antimicrobial agents: collateral damage concept. Klin. Mikrobiol. Antimikrob. Khimioter. 2010;12(4):284-294. (In Russian).
16. Guidelines "Antimicrobial susceptibility testing of microorganisms". MUK 4.2.1890-04. Utverzhdeno Glavnym gosudarstvennym sanitarnym vrachom RF 04.03.2004. Available at: http://docs.cntd.ru/document/1200038583 (In Russian).
17. Guidelines "Antimicrobial susceptibility testing of microorganisms". Version 2025-01. Approval year (revision frequency): 2025 (revision annually). MAKMAH, SSMU: Smolensk; 2025. (In Russian).
18. European Centre for Disease Prevention and Control. Salmonellosis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2019. Available at: https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/ documents/AER_for_2016-salmonellosis.pdf
19. Egorova SA, Kaftyreva LA, Pomazanov VV. Current trends in the development of resistance to clinically significant antibiotics in *Salmonella* (review of literature). Russian Clinical Laboratory Diagnostics. 2020;65(5):308-315. DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-5-308-315 (In Russian).
20. Egorova SA, Makarova MA, Zabrovskaya AV, Matveeva ZN, Suzhaeva LV, Voitenkova EV, et al. Diversity of antimicrobial resistance mechanisms in salmonella. Infekc. immun. 2011;1(4):303-310. (In Russian).
21. Crump JA, Sjölund-Karlsson M, Gordon MA, Parry CM. Epidemiology, clinical presentation, laboratory diagnosis, antimicrobial resistance, and antimicrobial management of invasive *Salmonella* infections. Clinical Microbiology Reviews. 2015;28(4):901-937. DOI: 10.1128/CMR.00002-15
22. Gómez D, Azón E, Marco N, Carramiñana JJ, Rota C, Ariño A, et al. Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* and *Listeria innocua* from meat products and meat-processing environment. Food Microbiol. 2014;42:61-65. DOI: 10.1016/j.fm.2014.02.017
23. Kaszoni-Rückerl I, Mustedanagic A, Muri-Klinger S, Brugger K, Wagner KH, Wagner M, et al. Predominance of Distinct *Listeria innocua* and *Listeria monocytogenes* in Recurrent Contamination Events at Dairy Processing Facilities. Microorganisms. 2020;8(2):234. DOI: 10.3390/microorganisms8020234
24. Li M, Yan S, Fanning S, Li F, Xu J. Whole Genome Analysis of Three Multi-Drug Resistant *Listeria innocua* and Genomic Insights Into Their Relatedness With Resistant *Listeria monocytogenes*. Front. Microbiol. 2021;12:694361-69436. DOI: 10.3389/fmicb.2021.694361

Информация о соавторах:

Деревянченко Ирина Анатольевна, биолог бактериологической лаборатории Восточного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге и Ленинградской области»; младший научный сотрудник лаборатории медицинской бактериологии ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
ORCID: 0009-0001-5575-1296

Кафтырева Лидия Алексеевна, доктор медицинских наук, руководитель микробиологического отдела ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
ORCID: 0000-0003-0989-1404

Ветрова Лидия Сергеевна, врач-бактериолог бактериологической лаборатории Восточного филиала ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в городе Санкт-Петербурге и Ленинградской области»; младший научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФБУН «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера»
ORCID: 0009-0002-9039-6733

Information about co-authors:

Irina A. Derevyanchenko, biologist of the bacteriological laboratory of the Eastern branch of the Federal Budgetary Institution of Health "Center for Hygiene and Epidemiology in St. Petersburg and the Leningrad Region"; Junior Researcher of the laboratory of medical bacteriology of the Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology
ORCID: 0009-0001-5575-1296

Lidia A. Kaftyreva, MD, PhD, DSc, Head of the Microbiological Department of Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology
ORCID: 0000-0003-0989-1404

Lidia S. Vetrova, bacteriologist of the bacteriological laboratory of the Eastern branch of the Federal Budgetary Institution of Health "Center for Hygiene and Epidemiology in the City of St. Petersburg and the Leningrad Region"; Junior Researcher of the Laboratory of intestinal infections of the Pasteur Research Institute of Epidemiology and Microbiology
ORCID: 0009-0002-9039-6733

Нарушение общей защиты восстанавливает антибиотики против двух бактерий муковисцидозов в легких



Критические грамотрицательные патогены, такие как Pseudomonas, Stenotrophomonas и Burkholderia, стали устойчивыми к большинству антибиотиков. Сложные профили резистентности в сочетании с синергетическим взаимодействием между этими организмами повышают вероятность неудачи лечения в различных условиях инфекции, например, в легких пациентов с муковисцидозом (МВ). Обнаружено, что пути гомеостаза белков клеточной оболочки лежат в основе как антибиотикорезистентности, так и перекрестной защиты у бактерий, ассоциированных с МВ. Установлено, что ингибирование окислительного фолдинга белков инактивирует множество специфических для видов белков резистентности. Используя эту стратегию, сенсибилизировали мультирезистентную Pseudomonas aeruginosa к бета-лактамным антибиотикам и продемонстрировали перспективность новых путей лечения трудноизлечимого возникающего патогена Stenotrophomonas maltophilia. Тот же подход также подавляет перекрестную защиту между резистентной S. maltophilia и восприимчивой P. aeruginosa, позволяя уничтожать оба этих часто встречающихся вместе организма, ассоциированных с МВ. Эти результаты служат основой для разработки стратегий следующего поколения, которые направлены на борьбу с антибиотикорезистентностью и одновременно нарушают специфические межбактериальные взаимодействия, усиливающие тяжесть полимикробных инфекций.

Zambrano MM, eLife Assessment: Antibiotic potentiation and inhibition of cross-resistance in pathogens associated with cystic fibrosis, eLife (2025). DOI: 10.7554/elife.91082.2.sa4

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 94–98
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 94–98

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-94-98

Исследование адгезивной активности оральных лактобактерий (*in vitro*)

А.А.Пономарева, Е.И.Харина, А.А.Морозова, Л.Д.Тимченко, Н.И.Пенькова, Н.И.Гандрабурова, М.Н.Сизоненко

ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет», Ставрополь, Российская Федерация

В статье проведена оценка адгезивной активности 11 штаммов оральных лактобактерий, выделенных от здоровых добровольцев и идентифицированных с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Адгезия изучалась по методу Брилиса с использованием эритроцитов человека I (0) Rh+ группы крови. Проведены расчеты индекса адгезии, процента адгезированных эритроцитов и среднего показателя адгезии (СПА). Полученные результаты указывают на значительную гетерогенность адгезивных свойств с разделением штаммов на группы средней адгезии (СПА 171,2 ± 8,4 [162,3–180,0]), низкой (СПА 62,8 ± 5,2 [59,5–66,1]) и очень низкой (СПА 29,9 ± 7,4 [25,8–34,0]). Данные, полученные в ходе исследования, подтверждают значительные отличия адгезивных свойств в зависимости от вида, с преобладанием высокой активности у *Lactobacillus fermentum*. Исследование подчеркивает потенциал *L. fermentum* для разработки оральных пробиотических препаратов, способных конкурентно вытеснять патогены и поддерживать гомеостаз ротовой полости.

Ключевые слова: лактобактерии, оральная микробиота, адгезия, пробиотический потенциал, эритроциты

Для цитирования: Пономарева А.А., Харина Е.И., Морозова А.А., Тимченко Л.Д., Пенькова Н.И., Гандрабурова Н.И., Сизоненко М.Н. Исследование адгезивной активности оральных лактобактерий (*in vitro*). Бактериология. 2026; 11(2): 94–98. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-94-98

Study of adhesive activity of oral lactobacilli (*in vitro*)

A.A.Ponomareva, E.I.Kharina, A.A.Morozova, L.D.Timchenko, N.I.Penkova, N.I.Gandraburova, M.N.Sizonenko

North Caucasus Federal University, Stavropol, Russian Federation

The article evaluates the adhesive activity of 11 strains of oral lactobacilli isolated from healthy volunteers and identified using MALDI-TOF mass spectrometry. Adhesion was studied using the Brillis method with human erythrocytes of blood group I (0) Rh+, and calculations were made of the adhesion index, the percentage of adhered erythrocytes, and the average adhesion index (AAI). The results indicate significant heterogeneity in adhesive properties, with strains divided into groups of medium adhesion (AAI 171.2 ± 8.4 [162.3–180.0]), low (AAI 62.8 ± 5.2 [59.5–66.1]) and very low (AAI 29.9 ± 7.4 [25.8–34.0]). The data obtained during the study confirm significant differences in adhesive properties depending on the species, with a predominance of high activity in *Lactobacillus fermentum*. The study highlights the potential of *L. fermentum* for the development of oral probiotic preparations capable of competitively displacing pathogens and maintaining oral homeostasis.

Key words: lactobacilli, oral microbiota, adhesion, probiotic potential, erythrocytes

For citation: Ponomareva A.A., Kharina E.I., Morozova A.A., Timchenko L.D., Penkova N.I., Gandraburova N.I., Sizonenko M.N. Study of adhesive activity of oral lactobacilli (*in vitro*). Bacteriology. 2026; 11(2): 94–98. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-94-98

Ротовая полость человека – динамичная микробная экосистема, насчитывающая более 1000 видов бактерий, формирующая сложный биоценоз, поддерживающий гомеостаз слизистой оболочки рта и организма в целом [1, 2]. 1,5% нормальной микрофлоры представлено бактериями *Lactobacillus* spp., обладающими высоким пробиотическим потенциалом [3]. Пробиотический потенциал лактобактерий реализуется прежде всего за счет высокой адгезии, обеспечивающей колонизацию слизистых оболочек и поверхности зубов, что препятствует прикреплению ключевых патогенов полости рта (*Streptococcus mutans*, *Porphyromonas gingivalis*) [4, 5]. Несмотря на многочисленные исследования адгезии лактобактерий к буккальным эпителиоцитам [6], данные об их гемадгезивной активности, особенно для штаммов орального происхождения, остаются ограниченными. Это определяет актуальность настоящей работы, направленной на оценку адгезивных свойств оральных лактобактерий к эритроцитам человека как прогностической модели их пробиотической эффективности.

Цель исследования: изучение адгезивной активности оральных лактобактерий к эритроцитам человека I (0) Rh+ группы крови с использованием классической методики Брилиса.

Для корреспонденции:

Пономарева Аделина Анатольевна, аспирант кафедры микробиологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

Адрес: 355017, Ставрополь, ул. Пушкина, 1

Статья поступила 14.01.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Adelina A. Ponomareva, Postgraduate Student of the Department of Microbiology, North Caucasus Federal University

Address: 1 Pushkin str., Stavropol, 355017, Russian Federation

The article was received 14.01.2026, accepted for publication 30.06.2026

Материалы и методы

Исследование проводили на базе кафедры микробиологии Северо-Кавказского федерального университета. Объектом исследования служили предварительно выделенные из ротовой полости здоровых добровольцев в возрасте от 18 до 23 лет и идентифицированные до вида 11 штаммов *Lactobacillus* spp.

Исследование включало в себя 2 этапа: на первом этапе – сбор биоматериала с дальнейшим выделением чистых культур оральных лактобактерий и их идентификацией; на втором – определение адгезивной активности выделенных штаммов лактобактерий к эритроцитам человека по методу Брилиса [7].

Сбор биоматериала ротовой полости осуществляли стерильными зондами в соответствии с методическими указаниями [8]. Из полученного биоматериала готовили взвесь на физиологическом растворе с десятикратными разведениями до получения отдельных колоний при высеве на плотную питательную среду. Посевы производили на капустный агар (700 мл капустного отвара, 20 г/л глюкозы, 10 г/л пептона сухого ферментативного, 10 г/л карбоната кальция, агар бактериологический 15 г/л, 300 мл дистиллированной воды) и инкубировали анаэробно при 37°C в течение 48 ч. После визуализации отдельных колоний на поверхности питательной среды была проведена идентификация полученных микроорганизмов до рода путем изучения культуральных, тинкториальных и морфологических свойств. Видовая идентификация проводилась при помощи метода MALDI-TOF масс-спектрометрии.

Определение адгезивной активности полученных штаммов лактобактерий проводили согласно методу Брилиса, который заключается в совместном инкубировании бактерий с эритроцитами и последующей оценке результатов взаимодействия между ними под световым микроскопом [7].

Для подготовки бактериальной суспензии идентифицированные до вида лактобактерии высевали в жидкую MRS-среду, инкубировали анаэробно при 37°C в течение 24 ч. После инкубирования лактобактерии дважды отмывали центрифугированием 4000 g в течение 2 мин в 0,9%-м растворе хлорида натрия (pH 7,2). Отмытые бактериальные клетки ресуспендировали в физиологическом растворе до получения концентрации $1{,}5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл (McFarland 5 Ед).

Для приготовления эритроцитарной взвеси у здорового добровольца была взята венозная кровь (I (0) Rh+) и помещена в вакуумную пробирку UNIVAC, содержащую 10,8 мг К3ЭДТА. Полученную свежую кровь трехкратно отмывали путем центрифугирования в физиологическом растворе (pH 7,2) в течение 2 мин 4000 g. После получения чистой эритроцитарной взвеси готовили 1%-ю суспензию эритроцитов в 0,9% NaCl ($1 \cdot 10^8$ кл/мл).

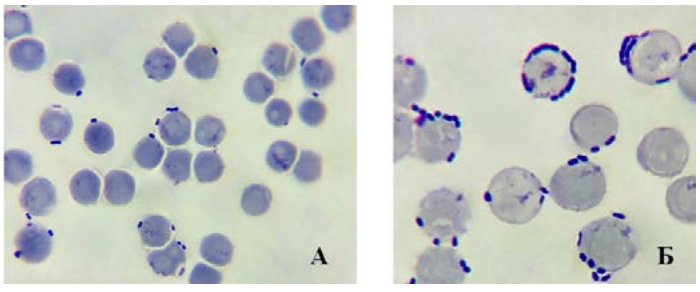


Рисунок. **Мазок крови, окрашенный по Романовскому–Гимзе: А – штамм L2, Б – штамм L3.**
Figure. ***Blood smear stained according to Romanovsky–Giemsa: A – strain L2, B – strain L3.***

Далее в стерильные 96-луночные планшеты вносили по 0,5 мл микробной взвеси и 1%-й суспензии эритроцитов, тщательно перемешивали и инкубировали при 37°C 30 мин. В качестве контроля использовали чистую эритроцитарную суспензию (0,5 мл) и бактериальную взвесь (0,5 мл) производственного штамма *Lactobacillus acidophilus* n.v. Ep 317/402, полученного из препарата «Наринэ».

В дальнейшем методику Брилиса модифицировали. После инкубирования готовили тонкие мазки на обезжиренном предметном стекле, высушивали на воздухе, фиксировали смесью Никифорова, окрашивали по Романовскому–Гимзе в течение 40 мин (по 3 мазка на 1 штамм), полученные окрашенные мазки исследовали в иммерсионной системе микроскопа (×100). В каждом из трех окрашенных мазков произвольным образом исследовали по 50 клеток эритроцитов, подсчитывая количество прикрепленных к ним клеток бактерий (рисунок).

Рассчитывали индекс адгезии по Брилису (общее количество прикрепленных бактерий / 50 эритроцитов), процент адгезированных эритроцитов (число эритроцитов с ≥1 бактерией / 50) × 100)), среднее количество бактерий на 1 адгезированный эритроцит и средний показатель адгезии (СПА).

Статистическую обработку данных проводили при помощи однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с использованием библиотеки SciPy в Python, достоверность различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Идентификация выделенных из ротовой полости *Lactobacillus* spp. выявила принадлежность оральных лактобактерий к 4 видам: *L. fermentum* (изоляты L3, L7), *L. rhamnosus* (изоляты L2, L4, L6, L8), *L. reuteri* (изоляты L1, L5, L10, L11), *Apilactobacillus apinorum* (изолят L9).

Результаты исследования адгезии бактерий к эритроцитам представлены в табл. 1.

Исходя из данных табл. 1, значения СПА варьируют от 1,36 ± 0,09 [1,19–1,53] (штамм L1) до 3,94 ± 0,16 [3,64–4,24] (штамм L7), что соответствует диапазону от очень низкой до средней степени адгезии по Брилису. Среднее значение СПА всей выборки составило 2,47 ± 0,97, коэффициент вариации – 39,2%, что свидетельствует о высокой гетерогенности адгезивных свойств. По значению среднего показателя адгезии удалось сформировать три статистически достоверно различающиеся группы (однофакторный дисперсионный анализ: $F = 51{,}8$; $p < 0{,}001$): со средней адгезией (СПА 171,2 ± 8,4 [162,3–180,0]; $n = 2$); с низкой адгезией (СПА 62,8 ± 5,2 [59,5–66,1]; $n = 4$); с очень низкой адгезией (СПА 29,9 ± 7,4 [25,8–34,0]; $n = 5$) (табл. 2).

Полученные результаты свидетельствуют в пользу выраженного полиморфизма адгезивных свойств оральных лактобактерий в зависимости от видовой принадлежности. Штаммы L3 и L7, обладающие самой высокой адгезией среди исследуемых и практически полным охватом эритро-

Таблица 1. **Показатели адгезивной активности оральных штаммов лактобактерий к эритроцитам человека *in vitro* (*n* = 150 эритроцитов на каждый штамм, показатели за 3 мазка крови на 1 штамм)**
Table 1. ***Indicators of adhesive activity of oral lactobacilli strains to human erythrocytes in vitro (n = 150 erythrocytes for each strain, indicators for 3 blood smears per 1 strain)***

Изолят / *Isolate*	M ± SD [ДИ]	A ± SD [ДИ], %	T ± SD [ДИ]	СПА ± SD [ДИ]	ИА ± SD [ДИ]
L1	8,3 ± 0,6 [7,4–9,2]	16,7 ± 1,2 [14,4–19,0]	11 ± 1,2 [9,0–13,6]	1,36 ± 0,09 [1,19–1,53]	0,23 ± 0,04 [0,15–0,31]
L2	34,7 ± 1,5 [32,1–37,3]	69,3 ± 3,1 [64,3–74,3]	65,7 ± 4,0 [59,3–72,1]	1,89 ± 0,08 [1,76–2,02]	1,31 ± 0,10 [1,13–1,49]
L3	49,7 ± 0,6 [48,8–50,6]	99,3 ± 1,2 [96,9–101,7]	174,3 ± 6,1 (164,4–184,2]	3,51 ± 0,11 [3,29–3,73]	3,48 ± 0,14 [3,16–3,80]
L4	20,3 ± 1,5 [17,7–23,0]	40,7 ± 3,1 [35,7–45,7]	57,7 ± 3,5 [52,1–63,3]	2,84 ± 0,13 [2,59–3,09]	1,16 ± 0,10 [1,00–1,32]
L5	19,0 ± 1,0 [17,2–20,8]	38,0 ± 2,0 [34,4–41,6]	43,7 ± 3,1 [38,7–48,7]	2,30 ± 0,12 [2,07–2,53]	0,87 ± 0,08 [0,73–1,01]
L6	26,7 ± 1,5 [24,1–29,3]	53,3 ± 3,1 [48,3–58,3]	61,3 ± 3,5 [55,7–66,9]	2,30 ± 0,10 [2,12–2,48]	1,23 ± 0,09 [1,08–1,38]
L7	42,7 ± 1,5 [40,1–45,3]	85,3 ± 3,1 [80,3–90,3]	168,0 ± 7,0 [155,5–180,5]	3,94 ± 0,16 [3,64–4,24]	3,36 ± 0,19 [3,02–3,70]
L8	23,7 ± 1,5 [21,1–26,3]	47,3 ± 3,1 [42,3–52,3]	66,3 ± 4,0 [59,9–72,7]	2,80 ± 0,12 [2,57–3,03]	1,32 ± 0,11 [1,12–1,52]
L9	23,7 ± 1,2 [21,4–26,0]	47,3 ± 2,3 [43,4–51,2]	38,0 ± 2,6 [33,8–42,2]	1,60 ± 0,09 [1,43–1,77]	0,76 ± 0,07 [0,64–0,88]
L10	16,0 ± 1,0 [14,2–17,8]	32,0 ± 2,0 [28,4–35,6]	25,3 ± 2,1 [21,5–29,1]	1,58 ± 0,10 [1,40–1,76]	0,51 ± 0,06 [0,41–0,61]
L11	21,0 ± 1,0 [19,2–22,8]	42,0 ± 2,0 [38,4–45,6]	31,0 ± 2,6 [26,8–35,2]	1,48 ± 0,09 [1,31–1,65]	0,62 ± 0,07 [0,50–0,74]

M – среднее число эритроцитов с адгезированными бактериями на 1 мазок; SD – стандартное отклонение; ДИ – доверительный интервал; A – % эритроцитов с адгезированными бактериями; T – общее число адгезированных бактерий; СПА – средний показатель адгезии; ИА – индекс адгезии.
M is the average number of erythrocytes with adhered bacteria per smear; SD is the standard deviation; ДИ is the confidence interval; A is the % of erythrocytes with adhered bacteria; T is the total number of adhered bacteria; СПА – the average adhesion index; IA is the adhesion index.

Таблица 2. **Разделение штаммов на группы по адгезивной активности**
Table 2. ***Division of strains into groups according to adhesive activity***

Группа / *Group*	Штаммы / *Strains*	M ± SD [ДИ]	СПА ± SD [ДИ]	A ± SD [ДИ], %	ИА ± SD [ДИ]
Средняя адгезия / *Medium adhesion*	L3, L7	171,2 ± 8,4 [162,3–180,0]	3,72 ± 0,20 [3,52–3,92]	92,3 ± 4,5 [87,6–97,0]	3,42 ± 0,24 [3,18–3,66]
Низкая адгезия / *Low adhesion*	L2, L4, L6, L8	62,8 ± 5,2 [59,5–66,1]	2,45 ± 0,22 [2,32–2,58]	52,7 ± 5,6 [49,1–56,3]	1,30 ± 0,14 [1,21–1,39]
Очень низкая адгезия / *Very low adhesion*	L1, L5, L9, L10, L11	29,9 ± 7,4 [25,8–34,0]	1,68 ± 0,23 [1,55–1,81]	33,6 ± 6,3 [30,1–37,1]	0,62 ± 0,12 [0.56–0,68]

цитов, соответствуют виду *L. fermentum*, доминирующему среди высокоадгезивных оральных лактобактерий. Высокая плотность колонизации (до 6–7 микробных клеток на эритроцит) указывает на наличие адгезинов (S-слой, пили типа I и II, муцин-связывающие белки), обеспечивающих прочное прикрепление. Такие свойства крайне желательны для оральных пробиотиков, поскольку могут обеспечивать быстрое формирование биопленки и конкурентное вытеснение *S. mutans* и пародонтопатогенов.

Штамм L2, отнесенный к группе с низкой адгезией (СПА 1,89 ± 0,08 [1,76–2,02]), демонстрирует самый высокий процент адгезии (69,3 ± 3,1 [64,3–74,3]) среди штаммов в своей группе, что характерно для пилус-содержащих штаммов *L. rhamnosus* [9, 10]. Такой фенотип прикрепления выгодно дополняет высокоадгезивные штаммы в комбинированных пробиотических препаратах, обеспечивая быстрое покрытие больших площадей слизистой оболочки рта [6].

Штаммы с очень низкой активностью (L1, L5, L9, L10, L11) относятся к видам *L. reuteri* и *Apilactobacillus apinorum*, для которых характерна слабая способность к длительной персистенции в ротовой полости [5].

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о достаточно высокой адгезивной способности лактобацилл ротовой полости. Штаммы *L. fermentum* (L3, L7) обладают наибольшей адгезивной способностью среди изученных, что указывает на возможность их дальнейшего использования в разработке оральных пробиотических препаратов.

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding

No funding was received for conducting this study and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Пономарева А.А. – проведение эксперимента, написание текста статьи, сбор, анализ и визуализация данных; Харина Е.И. – разработка идеи исследования, поиск путей для реализации, предоставление ресурсов; Морозова А.А. – проведение эксперимента, разработка методологии иссле-

дования, сбор данных; Тимченко Л.Д. – научное руководство, анализ и поиск литературных данных, внесение правок в текст статьи; Гандрабурова Н.И. – внесение правок, анализ данных, оформление сопроводительных документов; Пенькова Н.И. – внесение правок, анализ и статистическая обработка данных; Сизоненко М.Н. – внесение правок, статистическая обработка данных.

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

Ponomareva A.A. – conducting the experiment, drafting the article, collecting, analysing and visualising the data; Kharina E.I. – developing the research concept, identifying ways to implement it, and providing resources; Morozova A.A. – conducting the experiment, developing the research methodology, collecting data; Timchenko L.D. – scientific guidance, analysing and searching for literature, editing the article; Gandraburova N.I.– editing, data analysis, preparation of supporting documents; Penkova N.I. – editing, analysis and statistical processing of data; Sizonenko M.N.– making amendments, statistical analysis of data.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Копецкий ИС, Побожьева ЛВ, Копецкая АИ, Шевелюк ЮВ. Микробиом полости рта. Российский медицинский журнал. 2021;27(4):365-372. DOI: 10.17816/0869-2106-2021-27-4-365-372
2. 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
3. Червинец ЮВ, Червинец ВМ, Миронов АЮ, Ботина СГ, Гагарина ЕЮ, Самоукина АМ, и др. Индигенные лактобациллы полости рта человека – кандидаты в пробиотические штаммы. Человек и его здоровье. 2012;1:131-137.
4. Усенко ДВ, Горелов АВ. Пробиотики и пробиотические продукты: возможности и перспективы применения. Вопросы современной педиатрии. 2004;2:50-54.
5. Piwat S, Sophatha B, Teanpaisan R. An assessment of adhesion, aggregation and surface charges of *Lactobacillus* strains derived from the human oral cavity. Lett Appl Microbiol. 2015 Jul;61(1):98-105. DOI: 10.1111/lam.12434
6. MacKenzie DA, Jeffers F, Parker ML, Vibert-Vallet A, Bongaerts RJ, Roos S, et al. Strain-specific diversity of mucus-binding proteins in the adhesion and aggregation properties of *Lactobacillus reuteri*. Microbiology (Reading). 2010 Nov;156(Pt 11):3368-3378. DOI: 10.1099/mic.0.043265-0
7. Брилис ВИ, Брилени ТА, Ленцнер ХП, Ленцнер АА. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов. Лабораторное дело. 1986;4:210-213.
8. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2006.
9. Kankainen M, Paulin L, Tynkkynen S, von Ossowski I, Reunanen J, Partanen P, et al. Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human-mucus binding protein. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Oct 6;106(40):17193-8. DOI: 10.1073/pnas.0908876106
10. Segers ME, Lebeer S. Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG-host interactions. Microb Cell Fact. 2014 Aug 29;13 Suppl 1(Suppl 1):S7. DOI: 10.1186/1475-2859-13-S1-S7

References

1. Kopetsky IS, Pobozhieva LV, Kopetskaya AI, Shevelyuk JV. Oral microbiome. Russian Medicine. 2021;27(4):365-372. DOI: 10.17816/0869-2106-2021-27-4-365-372 (In Russian).
2. 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
3. Chervinets YuK, Chervinets BM, Mironov AYu, Botina SG, Gagarina EYu, Samoukina AM, et al. The resident *Lactobacillus* from human oral cavity – candidates for probiotic strains. Kursk Scientific and Practical Bulletin "Man and His Health". 2012;1:131-137. (In Russian).
4. Usenko DV, Gorelov AV. Use of probiotics and probiotic products: possibilities and prospects Current Pediatrics. 2004;3(2):50-54. (In Russian).
5. Piwat S, Sophatha B, Teanpaisan R. An assessment of adhesion, aggregation and surface charges of *Lactobacillus* strains derived from the human oral cavity. Lett Appl Microbiol. 2015 Jul;61(1):98-105. DOI: 10.1111/lam.12434
6. MacKenzie DA, Jeffers F, Parker ML, Vibert-Vallet A, Bongaerts RJ, Roos S, et al. Strain-specific diversity of mucus-binding proteins in the adhesion and aggregation properties of *Lactobacillus reuteri*. Microbiology (Reading). 2010 Nov;156(Pt 11):3368-3378. DOI: 10.1099/mic.0.043265-0
7. Brilis VI, Brilene TA, Lencner HP, Lencner AA. Study techniques of adhesive process of microorganisms. Laboratornoe delo. 1986;4:210-212. (In Russian).
8. Technique for collecting and transporting biomaterials to microbiological laboratories: Methodological guidelines. M.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor, 2006. (In Russian).
9. Kankainen M, Paulin L, Tynkkynen S, von Ossowski I, Reunanen J, Partanen P, et al. Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human-mucus binding protein. Proc Natl Acad Sci U S A. 2009 Oct 6;106(40):17193-8. DOI: 10.1073/pnas.0908876106
10. Segers ME, Lebeer S. Towards a better understanding of *Lactobacillus rhamnosus* GG-host interactions. Microb Cell Fact. 2014 Aug 29;13 Suppl 1(Suppl 1):S7. DOI: 10.1186/1475-2859-13-S1-S7

Информация о соавторах:

Харина Елена Ивановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры базовой микробиологии Северо-Кавказского федерального университета

Морозова Ангелина Алексеевна, студентка 4-го курса Северо-Кавказского федерального университета

Тимченко Людмила Дмитриевна, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник межкафедральной научно-образовательной лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии медико-биологического факультета Северо-Кавказского федерального университета

Пенькова Надежда Ивановна, кандидат биологических наук, доцент, учебно-лабораторный комплекс общей биологии, медико-биологический факультет Северо-Кавказского федерального университета

Гандрабурова Надежда Ивановна, кандидат биологических наук, доцент кафедры базовой микробиологии Северо-Кавказского федерального университета

Сизоненко Марина Николаевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник межкафедральной научно-образовательной лаборатории экспериментальной иммуноморфологии, иммунопатологии и иммунобиотехнологии медико-биологического факультета Северо-Кавказского федерального университета

Information about co-authors:

Elena I. Kharina, PhD in Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Basic Microbiology, North Caucasus Federal University

Angelina A. Morozova, 4th year student, North Caucasus Federal University

Lyudmila D. Timchenko, PhD, DSc in Veterinary Sciences, Professor, Chief Researcher at the Interdepartmental Scientific and Educational Laboratory of Experimental Immunomorphology, Immunopathology and Immunobiotechnology, Faculty of Medicine and Biology, North Caucasus Federal University

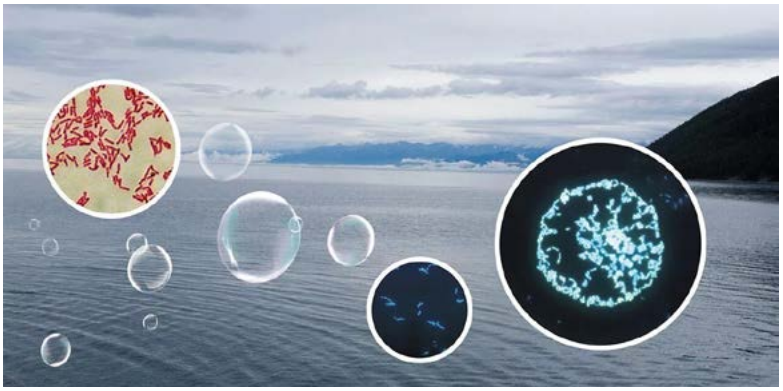
Nadezhda I. Penkova, PhD in Biological Sciences, Associate Professor, Educational and Laboratory Complex of General Biology, Faculty of Medical Biology, North Caucasus Federal University

Nadezhda I. Gandraburova, PhD in Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Basic Microbiology, North Caucasus Federal University

Marina N. Sizonenko, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher at the Interdepartmental Scientific and Educational Laboratory of Experimental Immunomorphology, Immunopathology and Immunobiotechnology, Faculty of Medical and Biological Sciences, North Caucasus Federal University

НОВОСТИ НАУКИ

Некоторые озерные бактерии выживают за счет того, что отсекают половину своего генома



Бактерии охватывают экосистемы Земли, сочетая в себе экологическую универсальность с архитектурной реконфигурацией генома в условиях меняющихся физико-химических параметров. Тем не менее пути изменения геномов, по которым свободноживущие линии пересекают границы экосистем, и последствия для структуры генома остаются малоизученными. Ученые использовали сравнительную и эволюционную геномику для исследования перехода из почвы в осадок и пресную воду у *Limnocylindria* – распространенной клады внутри типа *Chloroflexota*. Две родственные семьи демонстрируют противоположные стратегии: CSP1-4 расширяет геномы за счет приобретения специфических нишевых генов, тогда как *Limnocylindraceae* подвергается сокращению генома и упрощению метаболизма – что выявляет альтернативные эволюционные пути к схожим экологическим результатам. В семействе *Limnocylindraceae* потеря ключевых ДНК-гликозилаз совпадает с деградацией системы эксцизионного восстановления оснований и соответствует состоянию гипермутатора, который мог ускорить эрозию генома в процессе специализации к пресной воде, потенциально способствуя экологическому расширению. Эта траектория сокращения генома связана с линией, адаптированной к пресной воде, с неожиданно высоким содержанием ГЦ-пар, что ставит под сомнение канонические связи между составом оснований и размером генома. В то время как мутационные процессы, по всей видимости, доминируют в реструктуризации генома, паттерны на уровне протеома указывают на отбор в пользу эффективного использования аминокислот с точки зрения потребления углерода и азота, что подразумевает возможность возникновения адаптивной оптимизации параллельно с преимущественно неадаптивными динамическими процессами. В целом наши результаты согласуются с тем, что мутационно-обусловленное сокращение генома и оптимизация протеома действуют согласованно, обеспечивая пересечение границ экосистем и специализацию к пресной воде у свободноживущей линии *Chloroflexota*.

Serra Moncadas L, Shakurova A, Hofer C, Andrei AS.
Deep-branching Chloroflexota lineages illuminate the eco-evolutionary foundation of cross-ecosystem colonization.
Nat Commun. 2026 Apr 1;17(1):4696. DOI: 10.1038/s41467-026-71228-y

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-99-103

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 99–103
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 99–103

Противомикробная активность полимерных комплексов сополимеров N-виниламидов и оксикоричной кислоты с катионными ПАВ

Е.П.Ананьева[1], С.В.Гурина[1], Е.Т.Подоляко[1], Н.А.Нестерова[2], Е.Ф.Панарин[2], А.М.Клабуков[3], А.А.Штро[3]

[1]ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация;
[2]Филиал ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова» НИЦ «Курчатовский институт» – Институт высокомолекулярных соединений, Санкт-Петербург, Российская Федерация;
[3]ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А.Смородинцева», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Исследована антимикробная активность новых полимерных комплексов сополимеров N-виниламидов и оксикоричной кислоты с катионными поверхностно активными веществами (кПАВ) в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также грибов рода Candida. Установлено, что полимерные комплексы обладали более выраженным антимикробным действием, чем свободные кПАВ (алкилдиметилбензиламмония хлорид, полиоксиалкилгуанидин, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид). Выявлены наиболее активные соединения. При изучении цитотоксического действия показано, что полимерные комплексы оказались менее токсичными, чем исходные антимикробные ПАВ.
Ключевые слова: поверхностно-активные вещества, катамин АБ, экосепт, биопаг, антимикробная активность, минимальная ингибирующая концентрация, цитотоксичность

Для цитирования: Ананьева Е.П., Гурина С.В., Подоляко Е.Т., Нестерова Н.А., Панарин Е.Ф., Клабуков А.М., Штро А.А. Противомикробная активность полимерных комплексов сополимеров N-виниламидов и оксикоричной кислоты с катионными ПАВ. Бактериология. 2026; 11(2): 99–103. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-99-103

Antimicrobial activity of polymer complexes of copolymers of N-vinylamides and hydroxycinnamic acid with cationic surfactants

E.P.Ananyeva[1], S.V.Gurina[1], E.T.Podolyako[1], N.A.Nesterova[2], E.F.Panarin[2], A.M.Klabukov[3], A.A.Shtro[3]

[1]Saint-Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Saint Petersburg, Russian Federation;
[2]Branch of the B.P.Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Center «Kurchatov Institute» – Institute of Macromolecular Compounds, Saint Petersburg, Russian Federation;
[3]A.A.Smorodintsev Research Institute Influenza, Saint Petersburg, Russian Federation

The antimicrobial activity of new polymer complexes of N-vinylamide and hydroxycinnamic acid copolymers with cationic surfactants (cSAS) against gram-positive and gram-negative bacteria, as well as Candida fungi, was studied. The polymer complexes were found to exhibit a more pronounced antimicrobial effect than free cSAS (alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride, polyoxyalkyl guanidine, and polyhexamethylene guanidine hydrochloride). The most active compounds were identified. A study of the cytotoxic effect showed that the polymer complexes were less toxic than the original antimicrobial surfactants.
Key words: surfactants, katamine AB, ecosept, biopag, antimicrobial activity, minimum inhibitory concentration, cytotoxicity

For citation: Ananyeva E.P., Gurina S.V., Podolyako E.T., Nesterova N.A., Panarin E.F., Klabukov A.M., Shtro A.A. Antimicrobial activity of polymer complexes of copolymers of N-vinylamides and hydroxycinnamic acid with cationic surfactants. Bacteriology. 2026; 11(2): 99–103. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-99-103

В группе эффективных противомикробных препаратов неспецифического действия существенное место занимают катионные поверхностно-активные вещества (кПАВ), в частности четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), среди которых можно выделить алкилдиметилбензиламмоний хлорид (АДБАХ) [1, 2]. кПАВ широко применяются в раз-

Для корреспонденции:

Гурина Светлана Владимировна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Минздрава России

Адрес: 197376, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14, лит. А
E-mail: svetlana.gurina@pharminnotech.com
ORCID: 0000-0002-4072-405X

Статья поступила 08.02.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Svetlana V. Gurina, PhD in Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

Address: 14, lit. A prof. Popov str., Saint Petersburg, 197376, Russian Federation
E-mail: svetlana.gurina@pharminnotech.com
ORCID: 0000-0002-4072-405X

The article was received 08.02.2026, accepted for publication 30.06.2026

личных областях: обработка поверхностей, предотвращение коррозии металла, создание моющих и дезинфицирующих средств на их основе и пр. кПАВ обладают такими достоинствами, как высокая противомикробная эффективность, хорошие моющие свойства, отсутствие резкого запаха. Они хорошо растворимы в воде и стабильны при длительном хранении. Однако у кПАВ имеются недостатки, ограничивающие их применение, а именно быстрое формирование резистентности микроорганизмов к ним [3]. Кроме того, АДБАХ оказывает цитотоксическое действие на клетки млекопитающих [4], что ограничивает его применение в качестве антисептика. Именно поэтому целесообразно искать способы повышения эффективности и снижения токсичности кПАВ для расширения сфер применения, в частности АДБАХ. Некоторые полимерные соединения используются в качестве носителей в фармацевтической, биомедицинской областях, например для доставки активного вещества и повышения эффективности противомикробных агентов [5–7]. Кроме того, использование определенных полимеров для образования комплексов с антимикробными соединениями приводило к повышению противомикробной активности [8].

Целью данной работы являлось изучение и сравнительная оценка антимикробного и цитотоксического действия комплексов кПАВ с синтетическими полимерами на основе N-виниламидов (ВА) и оксикоричной кислоты (ОКК).

Материалы и методы

В работе использовали полимерные комплексы сополимеров ВА и ОКК с ПАВ, полученные в лаборатории гидрофильных полимеров филиала НИЦ «Курчатовский институт» – ПИЯФ – ИВС [9, 10]. Три из них (I–III) содержат звенья N-винилпирролидона (ВП), пять (IV–VIII) – N-винилформамида (ВФА), один (IX) – N-метил-N-винилацетамида (МВАА). Комплексы хорошо растворимы в воде, 0,9%-м растворе NaCl и мясопептонном бульоне (МПБ), устойчивы при комнатной температуре и нагревании до 80°С. В качестве кПАВ использовали: АДБАХ – торговая марка – Катамин АБ, поли(4,9-диоксадодекангуанидин)-гидрохлорид (ПОАГ) – торговая марка «Экосепт», полигексаметиленгуанидин гидрохлорид (ПГМГхл) – торговая марка «Биопаг».

Исследование противомикробной активности синтезированных соединений проводили с использованием тест-микроорганизмов: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Bacillus subtillis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15412. Противогрибковую активность определяли в отношении *Candida albicans* ATCC 10231. Данные штаммы бактерий и грибов были выбраны для анализа согласно общей фармакопейной статье [11].

Антимикробную активность комплексов определяли методом двукратных серийных разведений в жидкой питательной среде (МПБ) или жидкой среде Сабуро с последующим высевом на соответствующие плотные питательные среды.

Микробная нагрузка соответствовала 105 микробных клеток в 1 мл. Посевы бактерий инкубировали в термостате при температуре 37°С в течение 24 ч, грибов – 48 ч при температуре 24°С.

Минимальную ингибирующую концентрацию (МИК) определяли по наименьшему разведению образца, которое задерживало размножение культуры в пробирке с жидкой питательной средой. Для определения минимальной ингибирующей микробоцидной (МИКц) или микробостатитической (МИКст) концентрации делали высев из пробирок с видимым подавлением роста на плотную питательную среду. Отсутствие роста микроорганизма на плотной питательной среде свидельствовало о микробоцидном действии. МИКст определяли по появлению роста культуры на плотной среде.

Эксперименты для каждой микробной культуры проводили в трехкратном повторении.

Изучение цитотоксичности синтезированных комплексов проводили *in vitro*. Для определения использовали клеточные линии: эпидермоидной карциномы гортани человека (клетки Hep-2), почечного эпителия зеленой мартышки (клетки Vero), клеточной линии почки собаки (клетки MDCK). Клеточные линии получали из музея клеточных культур ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А.Смородинцева» Минздрава России.

Для каждого из полимерных соединений делали серию двукратных разведений в питательной среде DMEM до концентрации 0,98 мкг/мл (исходная концентрацию составляла 1000 мкг/мл). Перед заливкой растворов полимеров из планшетов удаляли ростовую среду, которая содержит сыворотку, промывали клеточный монослой питательной средой с антибиотиком. Затем в лунки вносили растворы полимерных комплексов с ПАВ. Инкубацию клеток производили при 37°С в атмосфере 5% CO_2. Оценивали жизнеспособность клеток с использованием метилтетразолиевого теста [12]. Из лунок удаляли питательную среду, после чего в них вносили раствор 3-4,5-диметилтиазол-2-ил-2,5-дифенилтетразолия бромида 0,5 мг/мл в объеме 100 мкл/лунку. Затем планшеты на 2 ч помещали в CO_2-инкубатор до восстановления соли тетразолия с образованием голубоватых кристаллов формазана. После этого жидкость удаляли, в лунки добавляли по 100 мкл диметилсульфоксида и измеряли оптическую плотность реакционной смеси при длине волны 450 нм на микропланшетном ридере Allsheng AMR-100. С помощью полученных значений оптической плотности вычисляли $ЦТД_{50}$ (50%-я цитототоксическая доза) – дозу вещества в лунке, при которой наблюдают 50%-ю деструкцию клеточного монослоя.

Результаты исследования их и обсуждение

В табл. 1 приведены характеристики полимерных комплексов на основе сополимеров ВА (продукты совместной полимеризации винилхлорида и винилацетата): ВП, ВФА, МВАА с ОКК. Сополимеры ВА-ОКК получали в 2 этапа. На первом этапе методом радикальной сополимеризации синтезировали сополимеры ВА с кумарином. На втором этапе методом полимераналогичных превращений гидролизовали лактонное кольцо звеньев кумарина раствором 0,1 н. NaOH с образованием натриевой соли оксикоричной кислоты (OKNa). Молекулярную массу сополимеров оценивали с помощью характеристической вязкости, определенной в растворе 0,1 н. NaCl при 25°С, состав и строение подтверждали спектрофотометрическими методами.

Полимерные водорастворимые комплексы сополимеров ВА-OKNa с кПАВ формировали в водной среде потенциометрическим титрованием растворов сополимеров ВП-ОКК,

Таблица 1. **Состав и строение полимерных комплексов сополимеров N-виниламидов (m1) и оксикоричной кислоты (m2) с кПАВ**
Table 1. ***Composition and structure of polymer complexes of copolymers of N-vinylamides (m1) and hydroxycinnamic acid (m2) with cationic surfactants***

№ комплекса / *Complex number*	ВА	Состав полимера-носителя, мол% / *Composition of the carrier polymer, mol%*		кПАВ / *cationic surfactants*	Содержание ПАВ в комплексе, масс% / *Surfactant content in the complex, mass%*
		m1	m2		
I	ВП	89	11	АДБАХ	3,5
II	ВП	60	40	АДБАХ	15
III	ВП	56	44	АДБАХ	16
IV	ВФА	62	38	АДБАХ	3,6
V	ВФА	80	20	АДБАХ	2
VI	ВФА	84	16	АДБАХ	1,8
VII	ВФА	84	16	АДБАХ – ПОАГ	1,2 + 0,6
VIII	ВФА	84	16	АДБАХ – ПГМГхл	1,2 + 0,6
IX	МВАА	84	16	АДБАХ	2,5

ВА – продукты совместной полимеризации винилхлорида и винилацетата.
ВА – products of joint polymerization of vinyl chloride and vinyl acetate; АДБАХ – alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride; ПОАГ – poly-(4,9-dioxadodecaneguanidine) hydrochloride; ПГМГхл – polyhexamethylene guanidine hydrochloride.

ВФА-ОКК, МВАА-ОКК 0,1%-ми водными растворами кПАВ. Комплексы из раствора выделяли лиофильной сушкой.

Все образцы являются производными АДБАХ, но в состав соединений VII, VIII дополнительно включены ПОАГ и ПГМГхл.

При изучении антибактериальной и противогрибковой активности полимерных комплексов в качестве препаратов сравнения для всех соединений использовали раствор АДБАХ. Для комплексов VII, VIII в качестве препаратов сравнения использовали смеси АДБАХ с растворами ПОАГ и ПГМГхл в соотношении 2:1 соответственно. Полимерные носители антимикробным действием не обладали.

Были определены значения МИКст и МИКц (табл. 2).

Концентрации кПАВ в комплексах приведены в пересчете на активное вещество (ПАВ).

Все исследуемые полимерные комплексы в условиях эксперимента обладали бактерицидным и фунгицидным действием, а некоторые из них (I, IV, VI, VIII, IX) проявляли бактеристатический и фунгистатический эффекты в отношении культур *S. aureus* и *C. albicans*.

В активных соединениях содержание звеньев ОКК не превышало 20%, кроме соединения IV. Отмечена зависимость антимикробной активности полимерных комплексов кПАВ от структуры полимера-носителя. Формирование внутримолекулярных контактов в макромолекулах полимеров-носителей с участием ионов АБДАХ приводит к изменению конформационного состояния макромолекул сополимеров в водном растворе [13]. При смене ВП в сополимерах ВА-ОКК на ВФА или МВАА изменяются конформация полимерного комплекса и локальная концентрация ПАВ в цепи макромолекулы, что, вероятно, влияло на антимикробную активность.

Наиболее эффективное действие в отношении грамположительных бактерий оказывал комплекс на основе ВФА (VII), в состав которого входит смесь двух антимикробных соединений – ПОАГ и АДБАХ: МИКц в отношении *S. aureus* – 0,27 мкг/мл, МИКц в отношении *B. subtillis* – 0,32 мкг/мл. Следующими по активности в отношении *S. aureus* и *B. subtillis* являлись комплексы I, IV, VI, VIII, IX. Кроме того, у соединений I, IV, V, VI, VIII, IX отмечено бактеристатическое действие в отношении *S. aureus*, которое не наблюдали в отношении *B. subtilis*. Таким образом, соединения I–IX проявляли антимикробную активность, превышающую активность свободного кПАВ (табл. 2).

Соединение VII проявило более высокую противогрибковую активность (более чем в 2 раза) в отношении *C. albicans*, чем исследуемые соединения (I, IV, V, VI, IX), которые содержали только АДБАХ (табл. 2). Фунгицидное действие соеди-

Таблица 2. **Противомикробная активность синтезированных полимерных комплексов и свободных кПАВ**
Table 2. **Antimicrobial activity of synthesized polymer complexes and free cationic surfactants**

Соединения / *Compounds*	Тест-микроорганизмы / *Test microorganisms*							
	S. aureus		*E. coli*		*B. subtillis*		*C. albicans*	
	Концентрация активного вещества, мкг/мл / *Concentration of active substance, μg/m*							
	$МИК_ц$	$МИК_{ст}$	$МИК_ц$	$МИК_{ст}$	$МИК_ц$	$МИК_{ст}$	$МИК_ц$	$МИК_{ст}$
I	0,54	0,27	33,5	–	0,65	–	0,87	0,43
II	1,7	–	44,7	–	1,3	–	1,7	–
III	1,7	–	44,7	–	1,7	–	1,3	–
IV	0,87	0,43	44,7	–	0,87	–	0,54	0,27
V	0,54	0,27	44,7	–	1,3	–	0,87	–
VI	0,54	0,27	44,7	–	0,54	–	0,87	0,43
VII	0,27	–	1,7	–	0,32	–	0,27	–
VIII	0,54	0,27	1,7	–	0,65	–	0,54	0,27
IX	0,54	0,27	27,9	–	0,87	–	0,54	0,27
АДБАХ	3,5	–	224	–	2,6	–	2,6	–
АДБАХ-ПОАГ	1,7	–	112	–	1,7	–	2,6	–
АДБАХ-ПГМГхл	3,5	–	224	–	2,6	–	3,5	–

$МИК_ц$ – minimum inhibitory microbicidal concentration; $МИК_{ст}$ – minimum inhibitory microbiostatic concentration.

нений, содержащих >20 мол.% звеньев ОКК (II, III), было менее эффективным, чем ингибирующий эффект соединений I, IV, VI, IX, которые оказывали и фунгистатическое действие.

Таким образом, включение дополнительных катионных ПАВ в состав полимерных комплексов повышало их антимикробную активность, что обусловлено созданием более высокой локальной концентрации кПАВ в комплексе. Комплексы с ПОАГ-АДБАХ и ПГМГхл-АДБАХ активнее исходных ПАВ, не связанных с полимерами-носителями. Кроме того, полимерный комплекс VII, содержащий АДБАХ и ПОАГ, был более эффективен в отношении грамположительных бактерий и дрожжей, чем комплекс VIII, включающей АДБАХ и ПГМГхл.

Изучение цитотоксичности полимерных комплексов проводили на клеточных культурах *in vitro*: Нер-2 (клетки эпидермоидной карциномы гортани человека), Vero (клетки почечного эпителия зеленой мартышки), MDCK (клетки почки собаки). В табл. 3 представлены значения цитотоксических доз (ЦТД50, мкг/мл), при которых выживает половина эукариотических клеток. Цитотоксическое действие рассчитывали на массу АДБАХ, ПОАГ и ПГМГхл, содержащихся в синтезированных комплексах (мкг/мл), поскольку сами полимеры-носители нетоксичны. Чем выше значения $ЦТД_{50}$, тем менее токсично поверхностно-активное вещество.

Включение кПАВ в состав полимерных комплексов снижало их цитотоксичность. Показано, что цитотоксическое действие исследуемых полимерных комплексов ниже в среднем в 1,5 раза, чем исходных кПАВ (табл. 3).

Все полимерные комплексы, а также растворы АДБАХ, ПОАГ и ПГМГхл оказали наибольшее цитотоксическое действие на клетки НЕр2 эпидермоидной карциномы гортани человека, а наименьшую токсичность проявили в отношении клеточной линии почки собаки. Комплекс VII, в состав которого входил ПОАГ, оказался менее токсичным в отношении всех исследуемых культур клеток, чем образец VIII, включающий ПГМГхл.

Таблица 3. **Цитотоксическое действие полимерных комплексов I–IX, АДБАХ и соединений на основе гуанидина на культуры клеток *in vitro***
Table 3. ***Cytotoxic effect of polymer complexes I–IX, ADBAC and guanidine-based compounds on cell cultures in vitro***

Соединения / *Compounds*	Культуры клеток / *Cell cultures*		
	HEp2	Vero	MDCK
	$ЦТД_{50}$, мкг/мл		
I	4,1	4,4	4,8
II	3,9	4,2	4,7
III	3,9	4,3	4,7
IV	4	4,3	4,8
V	4,1	4,5	4,9
VI	4,1	4,4	4,8
VII	3,8	4,1	4,4
VIII	3,6	3,8	4,3
IX	4,4	4,7	5,1
АДБАХ	2,7	2,9	3,3
ПОАГ	3,1	3,4	3,8
ПГМГхл	2,7	3	3,2

Заключение

Изучена противомикробная активность синтезированных моно и бикомпонентных комплексов кПАВ (АДБАХ, ПОАГ и ПГМГхл) с сополимерами N-виниламидов (ВП, ВФА, МВАА) и ОКК, а также исследована их цитотоксичность.

Показано, что полученные полимерные комплексы проявили выраженную антимикробную активность в отношении грамположительных бактерий *S. aureus* и спорообразующих *B. subtilis*, а также грибов рода Candida, в среднем в 4–5 раз превышающую активность свободных кПАВ. Наиболее активным соединением оказался комплекс на основе ВФА (VII), содержащий два антимикробных компонента: АДБАХ и ПОАГ. Кроме того, включение комбинации антимикробных кПАВ (АДБАХ с ПОАГ, АДБАХ с ПГМГхл) в полимерные комплексы привело к снижению их цитотоксического действия на клетки эукариот.

Источники финансирования
Работа выполнена в рамках бюджетного финансирования.
Funding
This work was supported by budget financing

Конфликт интересов
Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest
The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов
Ананьева Е.П. – экспериментальная работа, написание статьи; Гурина С.В. – экспериментальная работа, написание статьи; Подоляко Е.Т. – экспериментальная работа; Нестерова Н.А. – экспериментальная работа, написание статьи; Панарин Е.Ф. – анализ результатов экспериментов; Клабуков А.М. – эксперименты по определению цитотоксичности соединений; Штро А.А. – анализ результатов.

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
Ananyeva E.P. – experimental work, article writing; Gurina S.V. – experimental work, article writing; Podolyako E.T. – experimental work; Nesterova N.A. – experimental work, article writing; Panarin E.F. – analysis of experimental results; Klabukov A.M. – experiments to determine the cytotoxicity of compounds; Shtro A.A. – analysis of results.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература / References

1. Дегтярева ИА, Давлетбаев АМ, Миникаев ДТ. Перспективные бактерициды для предотвращения биокоррозии нефтепромыслового оборудования. Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология. 2022;1:121-134. DOI: 10.15593/2224-9400/2022.1.09 / Dyagtereva IA, Davletbaev AM, Minikaev DT. Promising bacteriocides for preventing biocorrosion of oilfield equipment. Bulletin of Perm National Research Polytechnic University. Chemical Technology and Biotechnology. 2022;1:121-134. DOI: 10.15593/2224-9400/2022.1.09 (In Russian).
2. Батраков А, Виденин В. Роль и эффективность новых антисептиков и дезинфектантов из группы ПАВ. Ветеринария сельскохозяйственных животных. 2023;11:52-57. / Batrakov AYa, Videnin VN. The role and effectiveness of new antiseptics and disinfectants from the surfactant group. Veterinary Science of Farm Animals. 2023;11:52-57. (In Russian).
3. Ковальчук СН, Федорова ЛС, Ильина ЕН. Молекулярные механизмы микробной устойчивости к дезинфицирующим средствам. Антибиотики и химиотерапия. 2023;68(1-2):45-56. DOI: 10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-45-56 / Kovalchuk SN, Fedorova LS, Ilina EN. Molecular mechanisms of microbial resistance to disinfectants. Antibiotics and Chemotherapy. 2023;68(1-2):45-56. DOI: 10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-45-56 (In Russian).
4. Еропкин МЮ, Еропкина ЕМ, Смирнова ТД, Литвинова ОМ, Киселев ОИ. Показатели клеточного метаболизма *in vitro* в исследовании антивирусных и антимикробных препаратов и скрининге цитопротекторных соединений [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://old.influenza.spb.ru/files/File/pokkletmet.pdf. / Eropkin MYu, Eropkina EM, Smirnova TD, Litvinova OM, Kiselev OI. Indicators of cellular metabolism *in vitro* in the study of antiviral and antimicrobial drugs and screening of cytoprotective compounds [Electronic resource]. Available at: https://old.influenza.spb.ru/files/File/pokkletmet.pdf. (In Russian).
5. Bromberg L, Magariños B, Torres BS, Santos Y, Concheiro A, Hatton TA, et al. Multifunctional polymeric guanidine and hydantoin halamines with broad biocidal activity. Int J Pharm. 2024 Feb 15;651:123779. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2024.123779
6. Мисин ВМ, Зезин АА, Климов ДИ, Сыбачин АВ, Ярославов АА. Биоцидные полимерные рецептуры и покрытия. Высокомолекулярные соединения. Серия Б. 2021;63(5):295-306. DOI: 10.31857/S2308113921050077 / Misin VM, Zezin AA, Klimov DI, Sybachin AV, Yaroslavov AA. Biocidal polymer formulations and coatings. High molecular weight compounds. Serie B. 2021;63(5):295-306. DOI: 10.31857/S2308113921050077 (In Russian).
7. Franco P, De Marco I. The Use of Poly(N-vinyl pyrrolidone) in the Delivery of Drugs: A Review. Polymers (Basel). 2020 May 13;12(5):1114. DOI: 10.3390/polym12051114
8. Афиногенов ГЕ, Панарин ЕФ. Антимикробные полимеры. СПб.: Гиппократ, 1993. / Afinogenov GE, Panarin EF. Antimicrobial polymers. SPb.: Hippocrates, 1993. (In Russian).
9. Нестерова НА, Захарова НВ, Сажина ЮА, Гаврилова ИИ, Панарин ЕФ. Влияние условий синтеза на молекулярные характеристики сополимеров кумарина с N-винилпирролидоном. Журнал общей химии. 2023;93(12):1937-1942. DOI: 10.31857/S0044460X23120132 / Nesterova NA, Zakharova NV, Sazhina YuA, Gavrilova II, Panarin EF. Effect of synthesis conditions on molecular characteristics of coumarin and N-vinylpyrrolidone copolymers. Russian Journal of General Chemistry. 2023;93(12):1937-1942. DOI: 10.31857/S0044460X23120132 (In Russian).
10. Подоляко ЕТ, Гурина СВ, Нестерова НА. Получение полимерных комплексов кумарина и исследование их биологической активности. Проблемы медицинской микологии. 2024;26(2):189. / Podolyako ET, Gurina SV, Nesterova NA. Preparation of polymeric coumarin complexes and study of their biological activity. Problems of Medical Mycology. 2024;26(2):189. (In Russian).
11. ОФС.1.2.4.0002.15 Микробиологическая чистота [Электронный ресурс]. Режим доступа: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia-projects/izdanie-13/1/1-2/1-2-4/1-2-4-2/?vers=1243&ysclid=lwj4dzx8cp568405779 (дата обращения 04.06.2026). / Microbiological purity. [Electronic resource]. Available at: https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia-projects/izdanie-13/1/1-2/1-2-4/1-2-4-2/?vers=1243&ysclid=lwj4dzx8cp568405779 (accessed 04.06.2026). (In Russian).
12. Niks M, Otto M. Towards an Optimized MTT Assay Journal of Immunological Methods. 1990;130(1):149-151. DOI: 10.1016/0022-1759(90)90309
13. Соловский МВ. Синтез и свойства гидрофильных реакционноспособных сополимеров, антимикробных и иммуногенных веществ на их основе. Автореф. дисс. ... докт. хим. наук: 02.00.06. СПб., 1996. / Solovsky MV. Synthesis and properties of hydrophilic reactive copolymers, antimicrobial and immunogenic substances based on them. Avtoref. diss. ... dokt. khim. nauk: 02.00.06. SPb., 1996. (In Russian).

Информация о соавторах:

Ананьева Елена Петровна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Минздрава России

Подоляко Елизавета Тарасовна, студентка ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет» Минздрава России

Нестерова Наталья Александровна, научный сотрудник лаборатории гидрофильных полимеров филиала ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова Национального исследовательского центра «Курчатовский институт» – Институт высокомолекулярных соединений

Панарин Евгений Фёдорович, член-корреспондент РАН, профессор РАН, доктор химических наук, заведующий лаборатории гидрофильных полимеров филиала ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П.Константинова НИЦ «Курчатовский институт» – Институт высокомолекулярных соединений
ORCID: 0000-0002-7005-5838

Клабуков Артём Маркович, младший научный сотрудник лаборатории химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А.Смородинцева» Минздрава России

Штро Анна Андреевна, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией химиотерапии вирусных инфекций ФГБУ «НИИ гриппа им. А.А.Смородинцева» Минздрава России
ORCID: 0000-0002-2295-1881

Information about co-authors:

Elena P. Ananyeva, PhD in Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

Elizaveta T. Podolyako, student of Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University

Natalia A. Nesterova, Researcher of the Laboratory of Hydrophilic Polymers of the Branch of the «B.P.Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Center «Kurchatov Institute» – Institute of Macromolecular Compounds
ORCID: 0000-0002-7005-5838

Evgeny F. Panarin, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences, Professor, PhD, DSc in Chemical Sciences, Head of the Laboratory of Hydrophilic Polymers of the Branch of the «B.P.Konstantinov Petersburg Nuclear Physics Institute of the National Research Center «Kurchatov Institute» – Institute of Macromolecular Compounds
ORCID: 0000-0002-7005-5838

Artem M. Klabukov, Junior Researcher at the Laboratory of Chemotherapy for Viral Infections at the A.A.Smorodintsev Research Institute of Influenza

Anna A. Shtro, PhD in Biological Sciences, Head of the Laboratory of Chemotherapy for Viral Infections at the A.A.Smorodintsev Research Institute of Influenza
ORCID: 0000-0002-2295-1881

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 104–114
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 104–114

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-104-114

Профилактическая вакцинация у обезьян: современные подходы, риски и перспективы формирования единого календаря вакцинации

Д.И.Догадов, В.Г.Оробей, С.А.Фокин, Г.Г.Онищенко

Курчатовский комплекс медицинской приматологии НИЦ «Курчатовский институт», Сочи, Российская Федерация

Тесные эволюционные связи между человеком и обезьянами обуславливают циркуляцию патогенов, которые характерны для обоих видов. Обезьяны подвержены многим инфекционным заболеваниям, угрожающим как их здоровью и жизни, так и здоровью людей, взаимодействующих с ними. Вакцинация обезьян в приматологических центрах предотвращает распространение заболеваний, обеспечивает защиту животных и сотрудников.

На сегодняшний день отсутствует универсальный календарь профилактических прививок и прививок по эпидемическим показаниям для обезьян, а данные об эффективности и безопасности многих человеческих вакцин применительно к различным видам приматов недостаточно изучены.

В данной статье представлен систематический обзор современных подходов к профилактике социально значимых и зоонозных инфекций, включая вирусы Эбола, кори, бешенства, гепатитов А и В, вируса гриппа, желтой лихорадки, оспы и SARS-CoV-2.

Проведенный анализ опубликованных данных свидетельствует о том, что при разработке протоколов иммунизации необходимо учитывать видовую чувствительность, возраст и статус здоровья животных, отдавать приоритет инактивированным препаратам и избегать использования живых аттенуированных вакцин, не прошедших испытания на конкретных видах, из-за риска возникновения вспышек заболеваний.

Ключевые слова: приматы, вакцинация, зоонозы, биологическая безопасность, календарь прививок, антитела

Для цитирования: Догадов Д.И., Оробей В.Г., Фокин С.А., Онищенко Г.Г. Профилактическая вакцинация у обезьян: современные подходы, риски и перспективы формирования единого календаря вакцинации. Бактериология. 2026; 11(2): 104–114. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-104-114

Preventive vaccination in monkeys: modern approaches, risks and prospects for the formation of a unified vaccination schedule

D.I.Dogadov, V.G.Orobei, S.A.Fokin, G.G.Onishchenko

Kurchatov Complex of Medical Primatology of National Research Center “Kurchatov Institute”, Sochi, Russian Federation

The close evolutionary relationship between humans and non human primates results in the circulation of pathogens common to both species. Monkeys are susceptible to many infectious diseases that threaten their health and life, as well as the health of people who interact with them. Vaccination of monkeys in primate centers prevents the spread of diseases and protects animals and staff.

Currently, there is no universal schedule of preventive vaccinations or vaccinations for epidemic indications for monkeys, and data on the efficacy and safety of many human vaccines in various primate species are insufficiently studied.

This article presents a systematic review of current approaches to the prevention of socially significant and zoonotic infections, including Ebola, measles, rabies, hepatitis A and B, influenza, yellow fever, smallpox, and SARS-CoV-2.

An analysis of published data suggests that when developing immunization protocols, it is necessary to take into account species susceptibility, age and health status of animals, prioritize inactivated preparations and avoid the use of live attenuated vaccines that have not been tested on specific species due to the risk of disease outbreaks.

Key words: primates, vaccination, zoonoses, biological safety, vaccination schedule, antibodies

For citation: Dogadov D.I., Orobei V.G., Fokin S.A., Onishchenko G.G. Preventive vaccination in monkeys: modern approaches, risks and prospects for the formation of a unified vaccination schedule. Bacteriology. 2026; 11(2): 104–114. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-104-114

Для корреспонденции:

Догадов Дмитрий Игоревич, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии и вирусологии, Курчатовский комплекс медицинской приматологии НИЦ «Курчатовский институт»

Адрес: 354376, с. Весёлое, Адлерский р-н, г. Сочи, ул. Мира, стр. 177
ORCID: 0000-0003-1596-0509

Статья поступила 30.04.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Dmitry I. Dogadov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher of the Laboratory of Microbiology and Virology Kurchatov Complex of Medical Primatology, National Research Center “Kurchatov Institute”

Address: 177 Mira str., Vesyoloye village, Adler district, Sochi, 354376, Russian Federation
ORCID: 0000-0003-1596-0509

The article was received 30.04.2026, accepted for publication 30.06.2026

Тесные эволюционные отношения между людьми и обезьянами являются причиной того, что микробиом обезьян включает представителей практически всех групп микроорганизмов, которые инфицируют и вызывают заболевания у человека. Это особенно актуально для приматологических центров, в которых часто происходит оборот или перемещение животных, а также для заведений и территорий, где обезьян, поступивших из мест естественного обитания, вводят в колонии восприимчивых к инфекции животных [1]. В связи с этим вакцинация является важным инструментом для профилактики и контроля инфекционных заболеваний, обеспечивая защиту людей и колоний животных.

Несмотря на то, что профилактическая вакцинация применяется во многих зоопарках и приматологических центрах мира, в литературе нет информации о календаре вакцинации обезьян. Кроме того, используемые схемы в большинстве случаев не являются универсальными и не могут быть применены в конкретных условиях того или иного учреждения. Также следует отметить, что для многих вирусных инфекций не разработаны эффективные вакцины, а в тех случаях, когда они разработаны для людей, нет информации об их эффективности для различных видов приматов.

На сегодняшний день во многих приматологических центрах мира при карантине импортированных животных тестируют, как правило, на туберкулез и латентные вирусные инфекции обезьян, которые необходимы для подтверждения SPF-статуса. Проведенные исследования свидетельствуют, что в современных условиях необходима система расширенного скрининга вирусных и бактериальных инфекций с учетом эпидобстановки как в стране импорта, так и в стране экспорта животных. Кроме того, необходима вакцинация сотрудников и обслуживающего персонала для обеспечения протективного иммунитета, а также для снижения вероятности передачи социально значимых инфекций обезьянам от человека и наоборот [1, 2].

Целью данной работы являлись систематизация и анализ имеющихся данных о применении вакцин против социально значимых и зоонозных вирусных инфекций у различных видов обезьян, а также обоснование необходимости разработки календаря профилактических прививок и календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям для обеспечения биологической безопасности животных в приматологических центрах и зоопарках.

Общие принципы и риски вакцинации

Вакцинация приматов является важным инструментом предотвращения инфекционных заболеваний, однако ее применение требует тщательного баланса между защитой популяций животных и минимизацией сопутствующих рисков. При вакцинации обезьян следует избегать живых вакцин, которые не были испытаны на конкретных видах приматов, так как существует риск возникновения вспышки заболевания среди животных. Из-за различного географического распространения инфекций, а также различий правил содержания обезьян в приматологических центрах и зоопарках на сегодняшний день не существует единого календаря прививок, а вакцинация зависит от эпидемиологической обстановки в том или ином регионе [3]. Несмотря на эти различия, многие авторы рекомендуют учитывать определенные факторы при разработке календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям и порядка их проведения: вид, возраст, состояние здоровья и предыдущие вакцинации животного; эффективность, безопасность, побочные эффекты, стоимость, доступность и условия хранения иммунологических препаратов; расположение вольеров, риски для персонала в приматологическом центре или зоопарке; распространенность заболевания в регионе, пути передачи инфекции, тяжесть болезни и зоонозный риск [4].

Бактериальные инфекции

Бактериальный менингит

Грамположительная бактерия *Streptococcus pneumonia* и грамотрицательная *Haemophilus influenza* широко распространены в антропогенной среде и являются этиологическими агентами бактериального менингита у обезьян, особенно после вирусной инфекции [5]. На сегодняшний день для людей зарегистрированы вакцины как против *S. pneumonia*, так и против *H. influenza*, но применение вакцины против *S. pneumonia* у обезьян в литературе не описано, а применение конъюгированной вакцины против *H. influenza* у шимпанзе оказалось неудачным [6]. Тем не менее согласно рекомендациям Ассоциации зоопарков и аквариумов США вакцины против этих бактерий являются обязательными для молодых орангутанов [7].

В России лицензированы инактивированные вакцины против пневмококковой инфекции – «Синфлорикс» (Бельгия), «Превенар 13» (США), «Пневмовакс 23» (США), а также 3 моновакцины для защиты от гемофильной инфекции – «Хиберикс» (Бельгия), «Акт-ХИБ» (Франция) и вакцина гемофильная типа b конъюгированная (Россия), однако их применение на обезьянах в рецензируемой литературе не описано.

Klebsiella pneumonia

K. pneumonia – грамотрицательная бактерия, которая вызывает у обезьян тяжелые инфекции с высокой летальностью, сопровождающиеся пневмонией, менингитом и гастроэнтеритом [8].

Для контроля заболеваемости в приматологических центрах были апробированы различные подходы к иммунизации, включая использование инактивированных и капсульных полисахаридных вакцин на низших обезьянах Нового Света (*Aotus lemurinus*, *Saimiri sciureus*, *Callithrix jacchus*) [9].

Эффективность вакцинации была подтверждена на моделях ночных обезьян и беличьих саймири, где удалось достичь значительного снижения летальности. Однако вариативность реактогенности – от отсутствия побочных явлений до гибели детенышей от эндотоксинемии – указывает на то, что существующие протоколы требуют адаптации под конкретные виды приматов [9].

На сегодняшний день отсутствие лицензированных вакцин против *K. pneumoniae* и информации о безопасности для различных видов обезьян существующих человеческих вакцин ограничивает их использование в зоопарках и приматологических центрах мира.

Лептоспироз

Лептоспироз представляет собой значимый природно-очаговый зооноз, вызываемый бактериями рода *Leptospira*. На

сегодняшний день классифицировано 66 патогенных и непатогенных видов возбудителя, включающих >300 различных сероваров. Естественным резервуаром инфекции в природе выступают грызуны. Вспышки лептоспироза среди обезьян зафиксированы как в естественных условиях обитания, так и среди содержащихся в неволе животных. Клиническая картина заболевания характеризуется развитием адинамии, анорексии, диареи, рвоты и летальным исходом [10].

На сегодняшний день описан опыт успешной элиминации лептоспирозной инфекции у беличьих обезьян (*S. sciureus*) путем применения формальдегид-инактивированной вакцины. Протокол иммунизации включал двукратное подкожное введение препарата с интервалом в 3 нед. и не сопровождался побочными эффектами [11]. Тем не менее в литературе нет сведений об использовании аналогичных вакцинных препаратов у других видов обезьян.

В России для специфической профилактики лептоспироза разработана инактивированная лептоспирозная вакцина, которая содержит смесь из 4 серогрупп возбудителя. Она дает надежную защиту от распространенных в России видов *Leptospira interrogans*, однако нет данных о применении этой вакцины среди обезьян.

Столбняк

Возбудитель столбняка – грамположительная анаэробная бактерия *Clostridium tetani* – широко распространен в окружающей среде. При попадании спор бактерии в рану происходит их активация с выделением мощного нейротоксина, который вызывает патологическую гиперактивность мышц, проявляющуюся в форме тяжелых тетанических спазмов [12].

Столбняк представляет серьезную опасность для всех видов обезьян. Заболевание характеризуется высокой летальностью, достигающей 77–100%. Исторические данные показывают, что в тропических колониях макак резусов до начала применения вакцин столбняк становился причиной почти каждой 4-й смерти (24,7%). Несмотря на высокую опасность, во многих приматологических центрах мира животных не вакцинируют.

Для иммунизации обезьян применяют столбнячный анатоксин для выработки иммунитета против нейротоксина *C. tetani*. В опытах на макаках резусах было показано, что введение 2 доз столбнячного анатоксина не вызывало побочных эффектов, обеспечивало, по-видимому, пожизненный иммунитет и позволило снизить смертность от столбняка до 0% [13].

На сегодняшний день многие руководства по приматам предлагают различные схемы вакцинации для обезьян, однако исследования эффективности для многих видов обезьян не проводилось, в связи с этим все рекомендации необходимо интерпретировать с осторожностью, пока в рецензируемой литературе не появятся результаты исследования эффективности [4].

Yersinia pseudotuberculosis

Y. pseudotuberculosis представляет собой грамотрицательную аэробную бактерию, которая является возбудителем клинического иерсиниоза. Вспышки заболевания описаны у многих видов животных, в т.ч. и обезьян (*Ateles fusciceps*, *Mico argentatus*), саймири и серебристых игрунок (*Mico argentatus*). Клиническая картина у обезьян характеризуется анорексией, апатией, диареей, атаксией и внезапной гибелью [14].

На сегодняшний день в мире есть две коммерческие вакцины – Pseudovac® (Нидерланды) и Yersiniavax® (Новая Зеландия), однако отсутствуют данные об оценке эффективности этих вакцин применительно к обезьянам [4].

Вирусные инфекции

Вирусы Эбола

Геморрагическая лихорадка Эбола – острое высококонтагиозное заболевание, вызываемое вирусом Эбола (род *Orthoebolavirus*, семейство *Filoviridae*), – представляет большую угрозу для диких человекообразных обезьян. Вспышки в популяциях горилл приводили к их сокращению на 90%, а среди шимпанзе – на 98%. Заражение обезьян происходит при прямом контакте с биологическими жидкостями или телами погибших животных, а природным резервуаром считаются крыланы семейства *Pteropodidae*. Охота или разделка приматов являлись причиной заражения вирусом людей, кроме того, вспышки геморрагической лихорадки среди людей происходили одновременно со вспышками среди обезьян в Центральной и Западной Африке [15].

Существуют различные вакцины против вируса Эбола. Одна из них – ERVEBO, живая аттенуированная рекомбинантная вакцина (Merck, США). Была показана ее эффективность для макак яванских (*Macaca fascicularis*) при внутримышечном, пероральном или интраназальном введении. Недостатками данной вакцины являются необходимость хранения при температуре -70°C и риск побочных эффектов (артрит, лихорадка), зафиксированных у людей [16].

Zabdeno/Mvabea – двухкомпонентная векторная вакцина (на основе аденовируса и вируса осповакцины) производства Johnson & Johnson (США). Двукратное введение этой вакцины с интервалом в 8 нед. обеспечивало полную защиту макак яванских от штамма Эбола Заир без видимых побочных реакций [17].

В России созданы высокоэффективные вакцины для людей «ГамЭвак» и «ГамЭвакКомби», однако данных о применении этих вакцин у обезьян нет.

Продолжаются исследования новых вакцин с альтернативными способами введения, так как существующие не подходят для массовой иммунизации популяции диких обезьян. В частности, была разработана вакцина на основе цитомегаловирусного вектора макак резусов, которая может распространяться среди животных. Эта вакцина показала эффективность от летального заражения вирусом Эбола у 80% макак резусов [18]. Среди шимпанзе были проведены испытания препарата FILORAB1 – рекомбинантной бивалентной инактивированной вакцины против вируса Эболы на основе вируса бешенства. Однократное (как пероральное, так и внутримышечное) введение привело к выработке антител, сопоставимое с таким же количеством, как и при введении вакцины на основе вирусоподобных частиц, без побочных эффектов. Тем не менее после вакцинации заражение вирусом не проводилось и эффективность вакцины не подтверждена [19].

Вирус энцефаломиокардита

Вирус энцефаломиокардита (род *Cardiovrus* A, семейство *Picornaviridae*) переносится крысами, которые заражают

корма и воду своими экскрементами. Смертельные вспышки этого вируса, а также родственного с ним вируса Менго были зафиксированы у широкого круга приматов Старого и Нового Света, включая человекообразных обезьян. Данная инфекция считается зоонозной, но клинические проявления у людей встречаются редко, и заражение, по-видимому, происходит не от инфицированных обезьян, а в результате контакта с экскрементами грызунов [20].

Одним из ранних методов вакцинации обезьян была перекрестная защита с использованием аттенуированного вируса Менго, при введении которой у павианов анубисов и макак резусов вырабатывались защитные титры антител без побочных эффектов [21].

Также разработана инактивированная вакцина на основе штамма EMCV-3 (SING-M105), выделенного от орангутанов. В испытаниях на мышах она показала высокую иммуногенность и хорошую переносимость, однако данные о ее применении на приматах пока не опубликованы [22].

Опубликованы данные исследования, в ходе которого после вакцинации у шимпанзе в течение как минимум 36 мес. сохранялись антитела. Существенным недостатком данной вакцины является использование для инактивации β-пропиолактона, который считается канцерогеном [23].

На павианах гамадрилах была протестирована одна из коммерческих вакцин для свиней EMC Vac (США). Двукратное внутримышечное введение препарата с интервалом в 21 день позволило сформировать стойкие титры антител у 5 из 6 животных длительностью не менее 6 мес., при этом никаких побочных эффектов зафиксировано не было.

Следует отметить, что в Российской Федерации вакцин против вируса энцефаломиокардита пока не зарегистрировано.

Вирус кори (ВК)

Корь – это высококонтагиозное, потенциально смертельное, но вакциноуправляемое заболевание, вызываемое РНК-содержащим вирусом, относящимся к семейству *Paramyxoviridae*, роду *Morbillivirus*.

Многие виды африканских и азиатских обезьян, включая антропоидов, восприимчивы к ВК. Вспышки спонтанной кори описаны во многих приматологических центрах мира. Как и у людей, корь у обезьян высококонтагиозна. Источником инфекции для обезьян считается человек. Являются ли обезьяны резервуаром инфекции для человека, до конца не изучено [2].

В современных условиях единственным способом защиты обезьян от кори является вакцинация. Она необходима не только животным, содержащимся в неволе (зоопарки, приматологические центры), но и популяциям обезьян, обитающим в естественных условиях в различных национальных парках мира, так как эти животные подвергаются постоянному контакту с людьми (туристы, наблюдающие за животными ученые) и тем самым имеют потенциальный риск заражения. Особенно это касается человекообразных обезьян, которые находятся на грани вымирания, имеют большое генетическое сходство с людьми и поэтому особенно подвержены антропонозным инфекциям. Было показано, что вакцинация препаратом Attenuvax вызывает у обезьян стойкий иммунитет, в частности, вакцинация у горилл способствовала выработке стойкого иммунитета минимум до 11 лет [24]. Исследование моновалентной вакцины MVac® (Serum Institute of India) показало наличие антител у 100% макак резусов и 87,5% свинохвостых макак, побочных эффектов не наблюдалось [25].

Экспериментальные исследования, проведенные на макаках резусах, показали, что вакцинировать животных необходимо с 6-месячного возраста, так как животные младше 6 мес. на вакцинацию практически не отвечают. У животных в возрасте 6–14 мес. стойкий иммунитет вырабатывается после введения 2 доз вакцины с перерывом 6–8 мес., тогда как у животных старше 14 мес. защитный титр антител вырабатывается после однократного введения антикоревой вакцины [26].

Для вакцинации используются как моновалентные вакцины, так и комбинированные препараты против кори, паротита и краснухи. В России разрешены к применению следующие вакцины против кори: вакцина паротитно-коревая культуральная живая (НПО «Микроген»), «Вактривир» (НПО «Микроген»), MMP® II (MSD), «Приорикс» (GSK), вакцина против кори, паротита и краснухи живая аттенуированная (Serum Institute of India) [27]. Мы не нашли информацию о применении этих вакцин на обезьянах и изучение последующего поствакцинального иммунитета. В литературе также нет данных об использовании поливалентных вакцин для человека (корь, краснуха, паротит) у обезьян, тем не менее использовать эти вакцины рекомендуется, так как они признаны безопасными для человекообразных обезьян. Рекомендуемый протокол включает вакцинацию в возрасте 15 мес. с последующей ревакцинацией через 6–7 лет [4].

Имеются данные, что вакцинация от ВК защищает обезьян от других вирусов рода *Morbillivirus*. Известно, что вирус чумы плотоядных (ВЧП) способен вызывать инфекцию у обезьян, в т.ч. клинически выраженную и даже с летальным исходом, и может вызывать вспышки среди обезьян рода макак с летальностью от 5 до 30% [28]. Было установлено, что макаки яванские, вакцинированные против кори, демонстрировали увеличение титра антител к ВК при экспериментальном заражении ВЧП. Также вакцинация против кори приводила к сокращению продолжительности выделения вируса при инфекции ВЧП. Чувствительность обезьян к ВЧП указывает на потенциальную возможность межвидового перехода этого вируса на человека, который, по-видимому, ограничен кросс-специфическим иммунитетом к ВК в человеческой популяции. Тем не менее данные исследований *in silico* и *in vitro* свидетельствуют о потенциальной возможности ВЧП инфицировать клетки человека [29]. Таким образом, вакцинация против ВК позволяет контролировать и зоонозные морбилливирусные инфекции у обезьян и человека.

Следует отметить, что не только вакцинация против ВК защищает от ВЧП, но и вакцина от ВЧП может защитить от ВК. Экспериментальные исследования на макаках резусах показали, что вакцинация 1 или 2 дозами Vangurd-DM против чумы собак способствовала выработке антител, реактивных в тесте на антитела к ВК, а также через год защищала от заражения ВК. Это исследование показало, что более дешевая вакцина против CDV не менее эффективна, чем

противокоревая вакцина Attenuvax, что делает вакцинацию против кори более доступной в больших приматологических центрах [30].

В настоящее время лабораторные приматы используются для оценки вакцин нового поколения, а также новых способов вакцинации против ВК. Так, чтобы упростить введение вакцины, был разработан пластырь, содержащий полимерные иглы микронного размера для инкапсулирования стандартной дозы коревой вакцины. Сравнительный анализ иммуногенности этого пластыря с подкожной инъекцией у макак резусов показал выработку защитного уровня антител в обеих группах животных. Также была разработана однодозовая сухая порошковая аттенуированная вакцина против ВК для респираторного введения. В эксперименте на макаках резусах было показано, что данная вакцина способствовала выработке защитных антител, которые защищали от заражения ВК дикого типа через год. Данные способы дают возможность однократной вакцинации и отказа от шприцев, а главное, обе вакцины являются термостабильными, это снижает зависимость от холодовой цепи хранения, что необходимо для массовой вакцинации в развивающихся странах [2].

Гепатит А

Гепатит А – широко распространенная высококонтагиозная антропонозная вирусная инфекция, вызываемая вирусом гепатита А (ВГА), описанная многими авторами у различных видов обезьян [31]. ВГА на сегодняшний день относится к роду *Hepatovirus,* семейству *Picornaviridae*.

Инфекция ВГА у обезьян часто протекает без клинических проявлений и сопровождается выделением вируса с фекалиями, появлением антител, а также повышением уровня аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ). Однако у импортированных животных в период акклиматизации заболевание часто протекает с клиническими проявлениями: снижение двигательной активности, появление жидкого стула, анорексия и нарастание печеночных ферментов (АЛТ, АСТ) в крови. Заболевание в этих случаях может закончиться летально [32].

Так как изоляты ВГА, полученные от обезьян, имеют различия с вариантами, выделенными от людей, эффективность человеческих вакцин против обезьяньих вариантов остается неизученной. В настоящее время вакцинация приматов против ВГА не рекомендуется из-за отсутствия явных клинических симптомов при естественном заражении и отсутствия в литературе данных о безопасности препаратов для этих животных. Вместо этого акцент делается на вакцинации персонала, что позволяет минимизировать риск зоонозной и обратной зоонозной передачи [33].

Гепатит В

Гепатит В – антропонозная инфекция. Возбудитель – ДНК-содержащий вирус семейства *Hepadnaviridae* рода *Orthohepadnavirus*. Вирус гепатита В (ВГВ), выделенный от человека, тесно связан с вариантами ВГВ, выделенным у человекообразных обезьян [34].

Низшие обезьяны малочувствительны к ВГВ. Первое исследование по характеристике штамма ДНК ВГВ было проведено на Маврикии в 2013 г. [35], в нем сообщалось о распространенности ВГВ в образцах сыворотки крови и образцах печени макак яванских. Что еще более важно, идентифицированные штаммы принадлежали к человеческому генотипу D, что демонстрирует возможность передачи между людьми и обезьянами. В Камеруне ВГВ был обнаружен у мартышки Прейса (*Cercopithecus preussi*). Эти данные убедительно свидетельствуют о межвидовой передаче ВГВ [36].

Несмотря на то, что вакцинация шимпанзе была рекомендована Европейской ассоциацией зоопарков и аквариумов, в литературе нет данных о регулярной вакцинации этого вида обезьян. Опыт применения бельгийской рекомбинантной вакцины Energix B у серебристых гиббонов (*Hylobates moloch*) показал, что введение препарата в сочетании с иммуноглобулином сразу после рождения и последующая ревакцинация обеспечивают сохранение иммунного ответа в течение 4,5 лет. Имеющиеся данные позволяют предположить, что даже однократная ревакцинация может быть достаточной. Тем не менее из-за ограниченности информации об эффективности защиты при реальном заражении основной рекомендацией остается иммунизация сотрудников учреждений [4].

Оспа коров

Коровья оспа представляет собой инфекционное заболевание, вызываемое вирусом, относящимся к роду *Orthopoxvirus*, семейству *Poxviridae*. Основным резервуаром инфекции в естественной среде обитания являются грызуны. Заболевание встречается среди обезьян как Старого, так и Нового Света, при этом у обезьян Нового Света данная инфекция протекает в тяжелой форме и сопровождается высоким уровнем смертности [37]. Важным аспектом является зоонозная природа заболевания. В литературе описана передача вируса не только от грызунов, но и бессимптомная зоонозная передача от обезьяны к человеку [38].

Для борьбы с распространением инфекции и защиты восприимчивых видов обезьян применяется вакцинация. Так, Европейской ассоциацией зоопарков и аквариумов был зафиксирован опыт вакцинации капуцинов [4]. Кроме того, вакцина MVA-BN (Bavarian Nordic, Дания) применялась для защиты тонкеанских макак (*Macaca tonkeana*) во время вспышки в зоопарке Италии. Здесь вакцина вводилась дважды с интервалом 1 мес., согласно инструкции производителя. При этом у всех вакцинированных животных наблюдалось 2–5-кратное увеличение титра антител класса G, побочных эффектов зарегистрировано не было [39].

Несмотря на то, что в литературе не описана безопасность использования вакцин против оспы коров для других видов приматов, вышеперечисленные исследования обнадеживают, и, по-видимому, использование вакцины MVA-BN возможно для обезьян, подверженных риску заражение вирусом.

Вирус оспы обезьян

Вирус оспы обезьян, принадлежащий к роду *Orthopoxvirus*, семейства *Poxviridae*, в последние годы является актуальным зоонозным вирусом. Резервуар заболевание точно не определен, но предположительно им являются грызуны. Среди обезьян это заболевание впервые было описано у

макак яванских в условиях неволи [40]. Позднее восприимчивость была подтверждена у макак резусов, беличьих саймири, обыкновенных игрунок, а также у человекообразных обезьян (горилл, шимпанзе, орангутанов) [41].

У макак инфекция проявляется в виде везикулопустулезных и папулезных кожных поражений, отека лица и шеи, одышки и геморрагического энтероколита. Описана вспышка среди шимпанзе, при которой заболеваемость и летальность составили 87 и 10% соответственно. Клинические признаки включали экзантему, абсцедирование кожных покровов, ринит и дисфагию [42].

Для борьбы с инфекцией исследуются вакцины различных поколений. Так, разработанный на основе оспавакцины препарат ACAM2000 (Emergent BioSolutions, США), введенный методом скарификации, значительно снижал уровень виремии и тяжесть клинических проявлений оспы обезьян у макак яванских. После скарификации у всех животных через 4 дня наблюдались красные пятна в месте вакцинации. Сухие корочки сохранялись примерно 3 нед., других побочных эффектов не наблюдалось [43].

Однократное введение вакцины LC16m8, также путем скарификации, обеспечивало защиту от заражения оспой обезьян как минимум в течение года после вакцинации. Кроме того, эта вакцина считается более безопасной, чем ACAM2000, из-за риска возникновения инфекции [44].

Коммерческая репликативно-дефективная вакцина на основе оспавакцины JYNNEOS (Bavarian Nordic, Германия) эффективно применялась у людей во время вспышки 2022 г. в США [45]. Вакцина Imvamune, производства этой же компании, также основанная на штамме оспавакцины, при подкожном введении макакам яванским обеспечивала защиту от оспы обезьян.

Применение мРНК-вакцины (mRNA-1769), представляющей собой липидные наночастицы, экспрессирующие поверхностные белки вируса оспы обезьян подобно вирусу оспавакцины обеспечило защиту от заражения, при этом продемонстрировало 10-кратное снижение количества кожных поражений, сокращение длительности заболевания и более сильный гуморальный ответ, который обеспечивал защиту не только от вируса оспы обезьян, но и от других ортопоксвирусов [46].

Экспериментальное исследование векторной вакцины на основе аденовируса 35, кодирующей антигены вируса оспавакцины, продемонстрировало лучшую защиту по сравнению с вакцинами на основе вируса оспавакцины, но худшую, чем ACAM2000, при двукратном внутримышечном введении с интервалом в 4 нед.

Сравнительный анализ вакцин показал, что вакцина ACAM2000 обеспечивает практически полную защиту от вируса оспы обезьян, тогда как вирус оспавакцины и вакцина LC16m8 обеспечивают значительную, но неполную защиту [47].

В Российской Федерации нет зарегистрированной вакцины против оспы обезьян, однако, основываясь на вышеприведенных исследованиях, по-видимому, для вакцинации обезьян можно рекомендовать использовать отечественные вакцины против натуральной оспы, так как они обеспечивают перекрестный иммунитет.

Бешенство

Вирус бешенства является наиболее известным видом рода *Lyssavirus* семейства *Rhabdoviridae*. У приматов бешенство является актуальной проблемой общественного здравоохранения, особенно в эндемичных странах, так как обезьяны занимают второе место после собак среди животных, наносящих травмы, а наличие задокументированных случаев передачи бешенства от приматов к человеку позволяет предположить, что постконтактная профилактика бешенства показана пациентам, пострадавшим от приматов в странах, где бешенство является эндемичным [48].

Бешенство зарегистрировано у различных видов обезьян, и на сегодняшний день в литературе описано >100 лабораторно подтвержденных случаев. Тем не менее среди национальных рекомендаций по постконтактной профилактике бешенства после травм, полученных от обезьян, не достигнуто единой позиции. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) рекомендует проводить вакцинацию и введение иммуноглобулина против бешенства после контакта с любым диким млекопитающим, включая обезьян, как при тяжелых травмах, так и при незначительных [49].

Аттенуированные живые вакцины против бешенства широко доступны, однако их не рекомендуется использовать у обезьян, поскольку их эффективность и безопасность на обезьянах не изучены. Инактивированные вирусные препараты для вакцинации против бешенства считаются более безопасными. В литературе мало данных об оценке эффективности вакцин, однако было показано, что подкожная вакцинация 2 дозами вакцины Defensor (Smith Kline, США) с интервалом в 30 дней приводила к выработке значительного количества нейтрализующих антител у макак резусов и макак яванских без наблюдаемых побочных эффектов [50].

Другое исследование, проведенное Marte et al. на гибридах макак резусов и макак яванских, показало, что однократная подкожная инъекция вакцины Rabisin (Boehringer Ingelheim, Гонконг) приводила к сероконверсии у 72% (26/36) животных через 2,5–6 лет после однократной иммунизации, без побочных эффектов [51]. Однако остается неясным, обеспечивают ли эти титры защиту от естественного заражения вирусом бешенства.

На сегодняшний день существуют различные календари прививок от бешенства для разных видов обезьян, но их эффективность и безопасность не подтверждены экспериментальными исследованиями. Протокол Европейской ассоциации зоопарков и аквариумов для вакцинации колобусов и павианов гамадрилов рекомендует введение инактивированной вакцины против бешенства 1 мл внутримышечно в возрасте 6–12 мес. с последующей ревакцинацией каждые 1–3 года [3], такой же календарь рекомендован и для капуцинов с ревакцинацией каждые 3 года [4]. Для человекообразных обезьян рекомендуется следовать режиму вакцинации, применяемому у человека, с ревакцинацией каждые 3 года [52]. Тем не менее эти рекомендации следует интерпретировать с осторожностью до тех пор, пока не появятся исследования об эффективности вакцин. Кроме того, при вакцинации крайне важно использовать инактивированные вакцины, поскольку они считаются безопасными и эффективными для обезьян.

Желтая лихорадка

Желтая лихорадка (ЖЛ) – это инфекционное заболевание, вызываемое вирусом, относящимся к семейству *Flaviviridae*, роду *Orthoflavivirus*. Заболевание является эндемичным для тропических регионов Африки и Южной Америки. Вирус является арбовирусом, передается преимущественно через укусы инфицированных комаров родов *Haemagogus* и *Sabethes* в Южной Америке и *Aedes* в Африке [53].

В то время как обезьяны Старого Света переносят ЖЛ бессимптомно, обезьяны Нового Света крайне чувствительны к вирусу. Так, вспышки со смертельными случаями зарегистрированы среди ревунов, паукообразных обезьян и беличьих саймири [54].

Экспериментальные исследования показывают, что у восприимчивых видов обезьян инфекция проходит те же стадии, что и у людей: после инкубационного периода могут развиться лихорадка, рвота, печеночная и почечная недостаточность, а также геморрагические проявления, приводящие к смерти [55].

Вакцина против ЖЛ человека (аттенуированный вирус) успешно используется уже более 80 лет [56]. Вакцина 17DD (Bio-Manguinhos, Бразилия) является одним из ключевых препаратов для предотвращения ЖЛ, особенно в эндемичных регионах; иммунитет у людей после однократной вакцинации сохраняется по меньшей мере 35 лет и, вероятно, является пожизненным [57]. Обезьяны рода макак (*Macaca mulatta*, *M. fascicularis*) являются одобренными ВОЗ животными, на которых разрешено моделирование вакцин против ЖЛ, следовательно, безопасность и эффективность коммерческих вакцин доказана для этих видов обезьян [58]. Кроме того, была описана вакцинация обезьян Нового Света – различных видов тамаринов (*Leontopithecus rosalia*, *Leontopithecus chrysomelas*, *Leontopithecus chrysopygus*) и ревунов вакциной 17DD. Несмотря на то, что безопасность и эффективность вакцины не была подтверждена заражением вирусом вакцинированных животных, титр выработанных антител был аналогичен тем, которые наблюдали у макак резусов [59].

Информации о применении коммерческих вакцин для многих видов обезьян сегодня недостаточно, но исследования показывают, что вакцины против ЖЛ человека на основе субштамма 17DD являются безопасными и эффективными для обезьян Старого и Нового Света, поэтому их использование следует рассматривать в эндемичных районах для предотвращения эпизоотических вспышек среди обезьян, а также изоляции резервуара вируса ЖЛ, тем самым способствуя охране общественного здравоохранения.

Вакцинация против ЖЛ в России проводится живой сухой вакциной (ФНЦИРИП им. М.П.Чумакова) для выезжающих в эндемичные страны [60], однако безопасность и эффективность ее на обезьянах не изучены.

Ретровирусы обезьян

Ретровирусы обезьян (SRV), исторически известные как обезьяньи ретровирусы типа D, относятся к роду *Betaretrovirus* семейства *Retroviridae*. Эта инфекция в основном распространена среди азиатских обезьян рода Macaca. Случаи заболевания были зарегистрированы в различных приматологических центрах мира, при этом распространенность вируса в эндемичных районах составляет >50% популяции [61]. У инфицированных животных может развиться СПИД-подобный синдром в результате подавления лимфоцитов [62].

Для борьбы с SRV у макак были разработаны две основные стратегии вакцинации, которые показали эффективность при экспериментальном заражении животных. Первоначально была создана вакцина на основе инактивированного вируса SRV-1, которая эффективно защищала макак [63]. Вторая стратегия заключалась в использовании рекомбинантной вакцины на основе вируса оспы, которая экспрессирует гликопротеин оболочки SRV gp70 и gp22 и обеспечивает защиту инфицированных животных путем индукции связывающих и нейтрализующих антител. Несмотря на достигнутые результаты, эти вакцины не получили широкого применения из-за стоимости и недостатка данных об их безопасности и эффективности *in vivo* [64].

Гаммагерпесвирус беличьих саймири

Гаммагерпесвирус саймири 2, более известный как герпесвирус саймири, относится к роду *Rhadinovirus* семейства *Orthoherpesviridae*. Исследования показывают, что беличьи саймири заражаются естественным путем в течение первых двух лет жизни [65]. После заражения вирус персистирует в организме хозяина на протяжении всей жизни, в основном в Т-лимфоцитах. Несмотря на то, что вирусная инфекция протекает у беличьих саймири бессимптомно, он может вызывать Т-клеточный лейкоз и лимфому у различных видов обезьян Старого Света [66].

Хотя в мире не существует коммерческих вакцин против герпесвируса саймири, Melender et al. была описана иммунизация тамаринов с помощью инактивированных частиц этого вируса, что позволило предотвратить у этих животных образование опухолей [67].

SARS-CoV-2

SARS-CoV-2 представляет собой оболочечный РНК-вирус, принадлежащий к роду *Betacoronavirus* семейства *Coronaviridae*, спонтанные случаи выявления которого были описаны у разных видов как высших, так и низших обезьян. Вирус был выявлен у равнинных горилл (*Gorilla gorilla gorilla*) в неволе после контакта с инфицированным сотрудником зоопарка Сан-Диего, у которого заболевание протекало бессимптомно. Помимо бессимптомных случаев, в зоопарках Праги и Роттердама были зафиксированы случаи заражения SARS-CoV-2 у горилл с клиническими проявлениями – у животных отмечали усталость, сухой кашель и потерю аппетита. У беличьего саймири (*S. sciureus*) была зафиксирована инфекция со смертельным исходом, однако роль вируса в смерти животного была не ясна. Экспериментальная инфекция была воспроизведена на обезьянах рода макак и павианах. У всех животных инфекция сопровождалась признаками респираторного заболевания легкой и средней степени тяжести с полным выздоровлением [68, 69].

На сегодняшний день для защиты обезьян от SARS-CoV-2 рекомендуется использовать вакцины для человека, так как есть исследования, в которых введение экспериментальной рекомбинантной вакцины производства Zoetis International не вызывало у животных побочных эффектов [70]. Тем не

менее эффективность вакцин для человека у обезьян остается недостаточно изученной, и вакцинация зависит от эпидемиологической ситуации в регионе и индивидуальной восприимчивости того или иного вида обезьян. Кроме того, профилактической мерой также может служить вакцинация сотрудников приматологических центров и зоопарков [71].

Вирусы гриппа

Вирусы гриппа представляют собой группу оболочечных вирусов с сегментированным РНК-геномом негативной полярности, относятся к семейству *Orthomyxoviridae*, в которое входят 7 родов, из которых 3 монотипных рода (*Alphainfluenzavirus*, *Betainfluenzavirus*, *Gammainfluenzavirus*) содержат вирусы, вызывающие инфекцию человека: вирусы гриппа А, В и С.

Все виды высших обезьян, а также многие виды низших обезьян Старого и Нового Света чувствительны к вирусу гриппа А. Некоторые виды также чувствительны к вирусу гриппа В [72]. Было показано, что у обитающих в природе обезьян (*Macaca* spp., *Chlorocebus aethiops*, *Erythrocebus patas*) антитела к вирусу гриппа А (вирусы H1N1, H3N2, H2N2) выявляются в 6–80% случаев, что свидетельствует о циркуляции вируса в природе среди этих животных [73]. Среди человекообразных обезьян также была зафиксирована широкая распространенность антител к вирусам гриппа: у горилл, содержащихся в неволе, – к вирусу гриппа А H3N2 – 3,9% (3/77), гриппа А H1N1 – 3,9% (3/77), гриппа В – 58,4% (45/77); у орангутанов – к вирусу гриппа А H3N2 – 5,6% (10/179), гриппа А H1N1 – 19,0% (34/179), гриппа В – 75,4% (135/179); у шимпанзе – к вирусу гриппа А H3N2 – 11,2% (34/305), гриппа А H1N1 – 71,5% (218/305), гриппа В – 26,2% (80/305) [74].

Различные виды макак (*M. fascicularis*, *M. mulatta*, *Macaca nemestrina*) использовались в экспериментальном воспроизведении гриппа А человека. В основном эти заражения сопровождались бессимптомной инфекцией, иногда с незначительными клиническими проявлениями. Острая инфекция с летальным исходом наблюдалась у обезьян только после заражения птичьим вирусом H5N1 [75] и вирусом H1N1 1918 г. [76].

Несмотря на то, что эффективность различных вакцин против гриппа была экспериментально оценена на обезьянах, на сегодняшний день в литературе нет информации о восприимчивости и эффективности существующих коммерческих вакцин для обезьян как в естественных условиях обитания, так и в условиях неволи. В связи с этим вакцинация персонала, работающего с различными видами приматов, является важной мерой и может оказаться более практичной и эффективной, чем вакцинация обезьян [4].

Обсуждение

Обезьяны играют важную роль в исследовании вакцин и поэтому часто выступают в качестве моделей для изучения эффективности и безопасности препаратов, предназначенных для человека. Однако, несмотря на широкое использование этих животных в научных целях, имеется мало данных относительно вакцинации самих обезьян. Сведения о вакцинах для обезьян, их эффективности, безопасности для различных видов крайне малочисленны. Большинство опубликованных исследований проводилось на небольшом количестве особей и охватывало единичные виды. Отсутствие достаточного количества исследований затрудняет разработку универсальных рекомендаций по вакцинации, учитывающих особенности различных видов и условий содержания.

Вместе с тем в ряде стран разработаны рекомендации по вакцинации обезьян, направленные на предотвращение инфекционных заболеваний среди этих животных. Рекомендациями предписывается: проведение кампании массовой вакцинации обезьян в национальных парках, заповедниках, питомниках; ведение мониторинга состояния вакцинированных животных и обновление схем вакцинаций; исключение применения живых вакцин, которые не были испытаны на конкретных видах приматов, из-за высокого риска возникновения вспышек заболевания среди животных; использование для определенных инфекций, например бешенства, только инактивированных вакцин, так как они считаются безопасными и эффективными для обезьян; необходимость создания протективного иммунитета у сотрудников и обслуживающего персонала, работающего с обезьянами, для предотвращения передачи инфекций от человека к животным и наоборот.

Для проведения качественной вакцинации особенно важным представляется расширение линейки специализированных вакцин для обезьян, разработка и внедрение национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям, порядка проведения профилактических прививок, учетных форм для регистрации и планирования прививок у обезьян. Это позволит исключить субъективность в процессе иммунизации, обеспечить своевременное введение вакцины животным, провести ревакцинацию при необходимости, обеспечить каждого животного паспортом (сертификатом) прививок. В конечном итоге это приведет к сохранению здоровья и жизни как самих обезьян, так и обслуживающего персонала, минимизирует риски заражения инфекционными заболеваниями.

Заключение

В данной работе обобщены сведения о вакцинации содержащихся в неволе обезьян. На сегодняшний день для многих заболеваний, возникающих у различных видов обезьян, эффективные вакцины не разработаны. И даже в тех случаях, когда вакцины разработаны, имеется мало информации об их безопасности и эффективности.

Авторы обосновали необходимость создания безопасных вакцин для обезьян, разработки и внедрения национального календаря профилактических прививок, календаря профилактических прививок по эпидемическим показаниям, порядка проведения профилактических прививок, учетных форм для регистрации и планирования прививок у обезьян.

Источники финансирования

Работа выполнена в рамках госзадания НИЦ «Курчатовский институт».

Funding

The work was carried out within the framework of a state assignment for the National Research Center "Kurchatov Institute".

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Догадов Д.И. – обзор публикаций на тему статьи, написание и научное редактирование текста; Оробей В.Г. – обзор публикаций на тему статьи, научное редактирование текста; Фокин С.А. – обзор публикаций на тему статьи, научное редактирование текста; Онищенко Г.Г. – обзор публикаций на тему статьи, научное 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 contribution

Dogadov D.I. – review of publications on the topic of the article, writing and scientific editing of the text; Orobey V.G. – review of publications on the topic of the article, scientific editing of the text; Fokin S.A. – review of publications on the topic of the article, scientific editing of the text; Onishchenko G.G. – review of publications on the topic of the article, scientific editing of the text.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература / References

1. Догадов ДИ, Кюрегян КК, Гончаренко АМ, Миносян АА, Кочконян АА, Карлсен АА, и др. Маркеры антропонозных вирусных инфекций у зеленых мартышек, поступивших из мест естественного обитания (Танзания). Вопросы вирусологии. 2023;68(5):394-403. / Dogadov DI, Kyuregyan KK, Alexandra GM, Minosyan AA, Kochkonyan AA, Karlsen AA, et al. Markers of antroponotic viral infections in vervet monkeys arrived from their natural habitat (Tanzania). Problems of Virology. 2023;68(5):394-403. DOI: 10.36233/0507-4088-188 (In Russian).
2. Dogadov DI, Kyuregyan KK, Goncharenko AM, Mikhailov MI. Measles in non-human primates. J of Medical Primatology. 2023 Apr;52(2):135-43. DOI: 10.1111/jmp.12630
3. Wiley JN, Rousser M, Webb T, Zoo T, Devoe R, Delk K et al. Hamadryas Baboon Care Manual; AZA Baboon Species Survival Plan: Silver Spring, MD, USA, 2020.
4. Nederlof RA, Sainmaa S, Wissink-Argilaga N, Koo BS, Bakker J. Preventative Vaccination of Nonhuman Primates. JZBG. 2025 Fev;6(1):8. DOI: 10.3390/jzbg6010008
5. Fox JG, Wikse SE. Bacterial meningoencephalitis in rhesus monkeys: clinical and pathological features. Lab Anim Sci. 1971 Aug;21(4):558-63.
6. Jones EE, Alford PL, Reingold AL, Russell H, Keeling ME, Broome CV. Predisposition to invasive pneumococcal illness following parainfluenza type 3 virus infection in chimpanzees. J Am Vet Med Assoc. 1984 Dec;185(11):1351-3.
7. Maggioncalda AN, Weber B, Lester B, Schaefer B, Sodaro S, Casella SM, et al. Orangutan (*Pongo*) Care Manual. USA: Association of Zoos and Aquariums: Silver Spring; 2017.
8. Lawson B, Garriga R, Galdikas BMF. Airsacculitis in fourteen juvenile southern Bornean orangutans (*Pongo pygmaeus wurmbii*). J of Medical Primatology. 2006 Jun;35(3):149-54. DOI: 10.1111/j.1600-0684.2006.00153.x
9. Obaldia N. Detection of *Klebsiella pneumoniae* antibodies in *Aotus l. lemurinus* (Panamanian Owl Monkey) using an enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) test. Lab Anim. 1991 Apr.;25(2):133-41. DOI: 10.1258/002367791781082603
10. González AV, Peña SJ, Bustamante RJ, Astudillo HM. Terminal leptospirosis in a woolly monkey (*Lagothrix lagothricha*) in Colombia. Rev MVZ Córdoba. 2015 Jan;20(1):4505-10. DOI: 10.21897/rmvz.81
11. Vieira AS, Lilenbaum W. Leptospirosis on captive wild animals in Latin America. Res Vet Sci. 2017 Dec;115:496-500. DOI: 10.1016/j.rvsc.2017.08.001
12. Popoff MR. Tetanus in animals. J Vet Diagn Invest. 2020 Mar;32(2):184-91. DOI: 10.1177/1040638720906814
13. Kessler MJ, Summer JW, Baer GM. Evaluation of a Killed Rabies Vaccine for Rhesus Monkeys (*Macaca mulatta*). The Journal of Zoo Animal Medicine. 1982 Jun;13(2):74. DOI: 10.2307/20094575
14. Nakamura S, Hayashidani H, Sotohira Y, Une Y. Yersiniosis caused by *Yersinia pseudotuberculosis* in captive toucans (*Ramphastidae*) and a Japanese squirrel (*Sciurus lis*) in zoological gardens in Japan. The Journal of Veterinary Medical Science. 2016 Feb;78(2):297-9. DOI: 10.1292/jvms.15-0298
15. Formenty P, Boesch C, Wyers M, Steiner C, Donati F, Dind F, et al. Ebola Virus Outbreak among Wild Chimpanzees Living in a Rain Forest of Cote d'Ivoire. J Infect Dis. 1999 Feb;179(s1):120-6. DOI: 10.1086/514296
16. Jones SM, Feldmann H, Ströher U, Geisbert JB, Fernando L, Grolla A, et al. Live attenuated recombinant vaccine protects nonhuman primates against Ebola and Marburg viruses. Nat Med. 2005 Jul;11(7):786-90. DOI: 10.1038/nm1258
17. Callendret B, Vellinga J, Wunderlich K, Rodriguez A, Steigerwald R, Dirmeier U, et al. A prophylactic multivalent vaccine against different filovirus species is immunogenic and provides protection from lethal infections with Ebolavirus and Marburgvirus species in non-human primates. PLoS ONE. 2018 Feb;13(2):e0192312. DOI: 10.1371/journal.pone.0192312
18. Marzi A, Murphy AA, Feldmann F, Parkins CJ, Haddock E, Hanley PW, et al. Cytomegalovirus-based vaccine expressing Ebola virus glycoprotein protects nonhuman primates from Ebola virus infection. Sci Rep. 2016 Feb;6(1):21674. DOI: 10.1038/srep21674
19. Warfield KL, Goetzmann JE, Biggins JE, Kasda MB, Unfer RC, Vu H, et al. Vaccinating captive chimpanzees to save wild chimpanzees. Proc Natl Acad Sci USA. 2014 Jun;111(24):8873-6. DOI: 10.1073/pnas.1316902111
20. Hill AG, Mackie JT. Encephalomyocarditis virus in a capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*). Vet Record Case Reports. 2023 Dec;11(4):e736. DOI: 10.1002/vrc2.736
21. Osorio JE, Hubbard GB, Soike KF, Girard M, Van Der Werf S, Moulin JC, et al. Protection of non-murine mammals against encephalomyocarditis virus using a genetically engineered Mengo virus. Vaccine. 1996 Feb;14(2):155-61. DOI: 10.1016/0264-410X(95)00129-O
22. Tong C, Tan BH, Sugrue R. Evaluation of a BE-inactivated whole virus preparation using an encephalomyocarditis virus strain that was isolated from fatal infection in orangutans. BioRxiv. 2023 Aug. DOI: 10.1101/2023.07.29.551122
23. Španinger E, Bren U. Carcinogenesis of β-Propiolactone: A Computational Study. Chem Res Toxicol. 2020 Mar;33(3):769-81. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.9b00389

24. Blasier MW, Travis DA, Barbiers R. Retrospective evaluation of measles antibody titers in vaccinated captive gorillas (*Gorilla gorilla gorilla*). Journal of Zoo and Wildlife Medicine. 2005 Jun;36(2):198-203. DOI: 10.1638/03-030.1
25. Yee JL, NPRC Breeding Colony Management Consortium, McChesney MB, Christe KL. Multicenter Safety and Immunogenicity Trial of an Attenuated Measles Vaccine for NHP. Comp Med. 2015 Oct;65(5):448-54.
26. MacArthur JA, Mann PG, Oreffo V, Scott GBD. The effect of measles vaccination in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*). Lab Anim. 1982 Jul;16(3):267-70. DOI: 10.1258/002367782780891831
27. Kostinov MP. The Combination Vaccine against Measles. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2020 Sep;19(4):57-62. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-4-57-62
28. Yoshikawa Y, Ochikubo F, Matsubara Y, Tsuruoka H, Ishii M, Shirota K, et al. Natural infection with canine distemper virus in a Japanese monkey (*Macaca fuscata*). Veterinary Microbiology. 1989 Jul;20(3):193-205. DOI: 10.1016/0378-1135(89)90043-6
29. Rendon-Marin S, Quintero-Gil C, Guerra D, Muskus C, Ruiz-Saenz J. Canine Morbillivirus from Colombian Lineage Exhibits *In Silico* and *In Vitro* Potential to Infect Human Cells. 2021 Sep; 10(9):1199. DOI: 10.3390/pathogens10091199
30. Christe KL, McChesney MB, Spinner A, Rosenthal AN, Allen PC, Valverde CR, et al. Comparative Efficacy of a Canine Distemper-Measles and a Standard Measles Vaccine for Immunization of Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*). Comparative Medicine. 2002 Oct;52(5):6.
31. Dogadov DI, Korzaya LI, Kyuregyan KK, Karlsen AA, Mikhailov MI, Lapin BA. Markers of hepatitis A in the monkeys of the Adlers primate center. Problems of Virology. 2019 Oct;64(5):246-9. DOI: 10.36233/0507-4088-2019-64-5-246-249
32. Dogadov DI, Kyuregyan KK, Mikhailov MI. Enteral viral hepatitis in monkeys. Problems of Virology. 2022 Sep;67(3):173-84. DOI: 10.36233/0507-4088-110
33. Kondova-Perseng I, Mansfield KG, Miller AD. Atlas of Diagnostic Pathology in Nonhuman Primates. Cham: Springer International Publishing; 2024. DOI: 10.1007/978-3-031-41280-6
34. Lanford RE, Chavez D, Rico-Hesse R, Mootnick A. Hepadnavirus Infection in Captive Gibbons. J Virol. 2000 Mar;74(6):2955-9. DOI: 10.1128/JVI.74.6.2955-2959.2000
35. Dupinay T, Gheit T, Roques P, Cova L, Chevallier-Queyron P, Tasahsu S, et al. Discovery of naturally occurring transmissible chronic hepatitis B virus infection among *Macaca fascicularis* from Mauritius island. Hepatology. 2013 Nov;58(5):1610-20. DOI: 10.1002/hep.26428
36. Foupouapouognigni Y, Mba SAS, Njouom R. Prevalence of hepatitis B virus infection among *Cercopithecidae* monkeys in Cameroon: Short Paper. Journal of Medical Primatology. 2011 Jun;40(3):194-6. DOI: 10.1111/j.1600-0684.2011.00471.x
37. Girling SJ, Pizzi R, Cox A, Beard PM. Fatal cowpox virus infection in two squirrel monkeys (*Saimiri sciureus*). Veterinary Record. 2011 Aug;169(6):156-156. DOI: 10.1136/vr.d4005
38. Puro V, Fusco FM, Castilletti C, Carletti F, Colavita F, Agrati C, et al. Occupational transmission of an Orthopoxvirus infection during an outbreak in a colony of Macaca tonkeana in Lazio Region, Italy, 2015. Zoonoses and Public Health. 2018 Aug;65(5):578-83. DOI: 10.1111/zph.12459
39. Cardeti G, Gruber CEM, Eleni C, Carletti F, Castilletti C, Manna G, Rosone F, et al. Fatal Outbreak in Tonkean Macaques Caused by Possibly Novel Orthopoxvirus, Italy, January 2015. Emerg Infect Dis. 2017 Dec;23(12):1941-9. DOI: 10.3201/eid2312.162098
40. Magnus PV, Andersen EK, Petersen KB, Birch-Andersen A. A pox-like disease in cynomolgus monkeys. Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica. 1959 Sep;46(2):156-76. DOI: 10.1111/j.1699-0463.1959.tb00328.x
41. Patrono LV, Pléh K, Samuni L, Ulrich M, Röthemeier C, Sachse A, et al. Monkeypox virus emergence in wild chimpanzees reveals distinct clinical outcomes and viral diversity. Nat Microbiol. 2020 Apr;5(7):955-65. DOI: 10.1038/s41564-020-0706-0
42. Brien SC, LeBreton M, Doty JB, Mauldin MR, Morgan CN, Pieracci EG, et al. Clinical Manifestations of an Outbreak of Monkeypox Virus in Captive Chimpanzees in Cameroon, 2016. The Journal of Infectious Diseases. 2024 Mar;229:275-84. DOI: 10.1093/infdis/jiad601
43. Hatch GJ, Graham VA, Bewley KR, Tree JA, Dennis M, Taylor I, et al. Assessment of the Protective Effect of Imvamune and Acam2000 Vaccines against Aerosolized Monkeypox Virus in Cynomolgus Macaques. J Virol. 2013 Jul;87(14):7805-15. DOI: 10.1128/JVI.03481-12
44. Gordon SN, Cecchinato V, Andresen V, Heraud JM, Hryniewicz A, Parks RW, et al. Smallpox Vaccine Safety Is Dependent on T Cells and Not B Cells. The Journal of Infectious Diseases. 2011 Apr;203(8):1043-53. DOI: 10.1093/infdis/jiq162
45. Deputy NP, Deckert J, Chard AN, Sandberg N, Moulia DL, Barkley E, et al. Vaccine Effectiveness of JYNNEOS against Mpox Disease in the United States. N Engl J Med. 2023 Jun;388(26):2434-43. DOI: 10.1056/NEJMoa2215201
46. Mucker EM, Freyn AW, Bixler SL, Cizmeci D, Atyeo C, Earl PL, et al. Comparison of protection against mpox following mRNA or modified vaccinia Ankara vaccination in nonhuman primates. Cell. 2024 Oct;187(20):5540-5553.e10. DOI: 10.1016/j.cell.2024.08.043
47. Jacob-Dolan C, Ty D, Hope D, McMahan K, Liu J, Powers OC, et al. Comparison of the immunogenicity and protective efficacy of ACAM2000, MVA, and vectored subunit vaccines for Mpox in rhesus macaques. Sci Transl Med. 2024 Mar;16(740):eadl4317. DOI: 10.1126/scitranslmed.adl4317
48. Blaise A, Parola P, Brouqui P, Gautret P. Rabies Postexposure Prophylaxis for Travelers Injured by Nonhuman Primates, Marseille, France, 2001–2014. Emerg Infect Dis. 2015 Aug;21(8):1473-6. DOI: 10.3201/eid2108.150346
49. Gautret P, Blanton J, Dacheux L, Ribadeau-Dumas F, Brouqui P, Parola P, et al. Rabies in Nonhuman Primates and Potential for Transmission to Humans: A Literature Review and Examination of Selected French National Data. Carabin H. PLoS Negl Trop Dis. 2014 May;8(5):e2863. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002863
50. Nieves P, Rodriguez JF, Kessler MJ, Bercovitch F. Subcutaneous rabies vaccination of pigtail macaques. J of Medical Primatology. 1996 Jan;25(1):14-6. DOI: 10.1111/j.1600-0684.1996.tb00187.x
51. Martelli P, St-Hilaire S, Hui WS, Krishnasamy K, Magouras I, Nekouei O. Evaluation of Vaccination Strategy Against Rabies in Hong Kong Macaques. Front Vet Sci. 2022 Mar;9:859338. DOI: 10.3389/fvets.2022.859338
52. Lukas K, Stoinski T. Gorilla Care Manual; AZA Gorilla Species Survival Plan: Silver Spring, MD, USA, 2017.
53. Nederlof RA, Virgilio T, Stemkens HJJ, Da Silva LCCP, Montagna DR, Abdussamad AM, et al. Yellow Fever in Non-Human Primates: A Veterinary Guide from a One Health Perspective. Veterinary Sciences. 2025 Apr;12(4):339. DOI: 10.3390/vetsci12040339
54. Dietz JM, Hankerson SJ, Alexandre BR, Henry MD, Martins AF, Ferraz LP, et al. Yellow fever in Brazil threatens successful recovery of endangered golden lion tamarins. Sci Rep. 2019 Sep;9(1):12926. DOI: 10.1038/s41598-019-49199-6
55. Fernandes NCCDA, Cunha MS, Guerra JM, Réssio RA, Cirqueira CDS, Iglezias SD, et al. Outbreak of Yellow Fever among Nonhuman Primates, Espirito Santo, Brazil, 2017. Emerg Infect Dis. 2017 Dec;23(12):2038-41. DOI: 10.3201/eid2312.170685
56. De Miranda RM, Fernandes RS, Da Silva-Fernandes AT, Ferreira-de-Brito A, Moreira SB, Pereira RC, et al. Neotropical Sylvatic Mosquitoes and *Aedes aegypti* Are Not Competent to Transmit 17DD Attenuated Yellow Fever Virus from Vaccinated Viremic New World Non-Human Primates. Viruses. 2022 Oct;14(10):2231. DOI: 10.3390/v14102231
57. Wieten RW, Jonker EFF, Van Leeuwen EMM, Remmerswaal EBM, Ten Berge IJM, De Visser AW, et al. A Single 17D Yellow Fever Vaccination Provides Lifelong Immunity; Characterization of Yellow-Fever-Specific Neutralizing Antibody and T-Cell Responses after Vaccination. PLoS ONE. 2016 Mar;11(3):e0149871. DOI: 10.1371/journal.pone.0149871

58. Hansen CA, Barrett ADT. The Present and Future of Yellow Fever Vaccines. Pharmaceuticals. 2021 Sep;14(9):891. DOI: 10.3390/ph14090891
59. Mason RA, Tauraso NM, Ginn RK, O'Brien TC, Trimmer RW. Yellow Fever Vaccine. V. Antibody Response in Monkeys Inoculated with Graded Doses of the 17D Vaccine. Appl Microbiol. 1972 May;23(5):908-13. DOI: 10.1128/am.23.5.908-913.1972
60. Pushko P, Ishmukhametov AA, Bredenbeek PP, Lukashevich IS. Experimental DNA-Launched Live-Attenuated Vaccines Against Yellow Fever. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2019 Mar;18(1):18-25. DOI: 10.31631/2073-3046-2019-18-1-18-25
61. Lerche NW, Osborn KG. Simian Retrovirus Infections: Potential Confounding Variables in Primate Toxicology Studies. Toxicol Pathol. 2003 Jan;31:103-10. DOI: 10.1080/01926230390174977
62. Lerche NW. Simian retroviruses: Infection and disease – implications for immunotoxicology research in primates. J of Immunotoxicology. 2010 Jun;7(2):93-101. DOI: 10.3109/15476911003657406
63. Marx PA, Pedersen NC, Lerche NW, Osborn KG, Lowenstine LJ, Lackner AA, et al. Prevention of simian acquired immune deficiency syndrome with a formalin-inactivated type D retrovirus vaccine. J Virol. 1986 Nov;60(2):431-5. DOI: 10.1128/jvi.60.2.431-435.1986
64. Montiel NA. Review article: An updated review of simian betaretrovirus (SRV) in macaque hosts. J of Medical Primatology. 2010 Oct;39(5):303-14. DOI: 10.1111/j.1600-0684.2010.00412.x
65. Fleckenstein B, Ensser A, Arvin A, Campadelli-Fiume G, Mocarski E, Moore PS, et al. Gammaherpesviruses of New World primates. Cambridge: Cambridge University Press; 2007.
66. Damania B. Oncogenic γ-herpesviruses: comparison of viral proteins involved in tumorigenesis. Nat Rev Microbiol. 2004 Aug;2(8):656-68. DOI: 10.1038/nrmicro958
67. Melendez LV, Hunt RD, Garcia FG, Daniel MD, Fraser CEO. Prevention of Lymphoma in Cotton-Top Marmosets by Herpesvirus saimiri Antiserum. J Med Primatol. 1974;3(4):213-20. DOI: 10.1159/000460007
68. Lu S, Zhao Y, Yu W, Yang Y, Gao J, Wang J, et al. Comparison of nonhuman primates identified the suitable model for COVID-19. Sig Transduct Target Ther. 2020 Aug;5(1):157. DOI: 10.1038/s41392-020-00269-6
69. Singh DK, Singh B, Ganatra SR, Gazi M, Cole J, Thippeshappa R, et al. Responses to acute infection with SARS-CoV-2 in the lungs of rhesus macaques, baboons and marmosets. Nat Microbiol. 2020 Dec;6(1):73-86. DOI: 10.1038/s41564-020-00841-4
70. Allender MC, Adkesson MJ, Langan JN, Delk KW, Meehan T, Aitken-Palmer C, et al. Multi-species outbreak of SARS-CoV-2 Delta variant in a zoological institution, with the detection in two new families of carnivores. Transbound Emerg Dis. 2022 Sep;69(5):e3060-e3075. DOI: 10.1111/tbed.14662
71. Nederlof RA, De La Garza MA, Bakker J. Perspectives on SARS-CoV-2 Cases in Zoological Institutions. Veterinary Sciences. 2024 Feb;11(2):78. DOI: 10.3390/vetsci11020078
72. Kalter SS, Heberling RL, Cooke AW, Barry JD, Tian PY, Northam WJ. Viral Infections of Nonhuman Primates. Laboratory Animal Science. 1997 Oct;47(5):7.
73. O'brien ThC, Tauraso NM. Antibodies to type A influenza viruses in sera from nonhuman primates. Archiv f Virusforschung. 1973 Sep;40(3-4):359-65. DOI: 10.1007/BF01242556
74. Paungpin W, Thongdee M, Ketchim N, Chaiwattanarungruengpaisan S, Saechin A, Sariya L, et al. Evidence of Influenza A Virus Infection in Cynomolgus Macaques, Thailand. Veterinary Sciences. 2022 Mar;9(3):132. DOI: 10.3390/vetsci9030132
75. Rimmelzwaan GF, Baars M, Van Amerongen G, Van Beek R, Osterhaus ADME. A single dose of an ISCOM influenza vaccine induces long-lasting protective immunity against homologous challenge infection but fails to protect Cynomolgus macaques against distant drift variants of influenza A (H3N2) viruses. Vaccine. 2001 Oct;20(1-2):158-63. DOI: 10.1016/S0264-410X(01)00262-6
76. Cillóniz C, Shinya K, Peng X, Korth MJ, Proll SC, Aicher LD, et al. Lethal Influenza Virus Infection in Macaques Is Associated with Early Dysregulation of Inflammatory Related Genes. PLoS Pathog. 2009 Oct;5(10):e1000604. DOI: 10.1371/journal.ppat.1000604

Информация о соавторах:

Оробей Владимир Григорьевич, кандидат медицинских наук, помощник руководителя по санитарно-эпидемиологическому надзору и контролю Курчатовского комплекса медицинской приматологии НИЦ «Курчатовский институт» по санитарно-эпидемиологическому надзору и контролю»; Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
ORCID: 0009-0001-3062-2826

Фокин Станислав Александрович, руководитель Курчатовского комплекса медицинской приматологии НИЦ «Курчатовский институт»; Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
ORCID: 0009-0003-8236-5440

Онищенко Геннадий Григорьевич, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заместитель директора по технологиям биобезопасности, Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт»
ORCID: 0000-0003-0135-7258

Information about co-authors:

Vladimir G. Orobei, PhD, MD, Assistant to the Head of Sanitary and Epidemiological Supervision and Control of the Kurchatov Complex of Medical Primatology, National Research Center "Kurchatov Institute"; National Research Center "Kurchatov Institute"
ORCID: 0009-0001-3062-2826

Stanislav A. Fokin, Head of the Kurchatov Complex of Medical Primatology, National Research Center "Kurchatov Institute"; National Research Center "Kurchatov Institute"
ORCID: 0009-0003-8236-5440

Gennady G. Onishchenko, MD, PhD, DSc, Professor, Academician of RAS, Deputy Director for Biosafety Technologies of National Research Center "Kurchatov Institute"

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-115-123

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 115–123
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 115–123

Комплексный анализ рисков и управление качеством в производстве менингококковых вакцин

А.А.Белянкин, Т.Ф.Черных

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Обзорная статья посвящена разработке вакцин с учетом рисков и их потенциального влияния на качество и безопасность продукта. Для эффективного управления рисками, возникающими при производстве менингококковых полисахаридных конъюгированных вакцин, необходимым условием является учет особенностей биотехнологических процессов при производстве. Риск-ориентированный подход при получении вакцин заключается в том, что все критические аспекты процесса планируются и контролируются. Подход к оценке рисков должен быть системным, с четко сформулированными целями и задачами. Такой подход к идентификации оценке рисков включает в себя критический анализ сырьевых материалов и исходных компонентов, анализ подготовки материалов и производственной среды, производственного цикл, технологического оборудования и персонала. На каждом этапе технологического процесса производства необходим тщательный контроль рисков от исходных материалов (живые штаммы культуры), микробиологический мониторинг производственной среды предприятий, человеческого фактора, квалификации персонала и контроля рисков.

Ключевые слова: риски, критические параметры, производственный процесс, персонал, контаминация, мониторинг

Для цитирования: Белянкин А.А., Черных Т.Ф. Комплексный анализ рисков и управление качеством в производстве менингококковых вакцин. Бактериология. 2026; 11(2): 115–123. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-115-123

Comprehensive risk analysis and quality management in the production of meningococcal vaccines

A.A.Belyankin, T.F.Chernykh

Saint Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

This review article focuses on the development of vaccines, taking into account the risks and their potential impact on the quality and safety of the product. To effectively manage the risks associated with the production of meningococcal polysaccharide conjugate vaccines, it is essential to consider the approach and specific features of the biotechnological processes involved. A risk-oriented approach to vaccine production involves planning and monitoring all critical aspects of the process. This approach should be systematic and aligned with specific goals and objectives. A systematic approach to risk identification and assessment includes: a critical analysis of raw materials and initial components, a critical analysis of material preparation and the production environment, the production cycle, technological equipment, and personnel. At each stage of the production process, careful risk control is necessary from the initial materials (live culture strains), microbiological monitoring of the production environment, human factors, staff qualifications, and risk control.

Key words: risks, critical parameters, production process, personnel, contamination, monitoring

For citation: Belyankin A.A., Chernykh T.F. Comprehensive risk analysis and quality management in the production of meningococcal vaccines. Bacteriology. 2026; 11(2): 115–123. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-115-123

Понятие «риск» в контексте биотехнологического производства менингококковых полисахаридных конъюгированных вакцин возможно трактовать как произведение вероятности наступления неблагоприятного события на степень его серьезности [1]. Данную универсальную формулировку возможно адаптировать в зависимости от специфики конкретной сферы применения. Нормативная документация Международного совета по гармонизации (ICH), посвя-

Для корреспонденции:

Белянкин Андрей Андреевич, аспирант ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России

Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, 14, лит. А
ORCID: 0000-0002-9882-6198

Статья поступила 02.04.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Andrey A. Belyankin, Postgraduate Student of the Saint Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Address: lit. A, 14 Prof. Popov str., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation
ORCID: 0000-0002-9882-6198

The article was received 02.04.2026, accepted for publication 30.06.2026

щенная менеджменту рисков качества, детализирует указанную концепцию и обосновывает критическую важность внедрения риск-ориентированных стратегий для гарантии качества фармацевтических процессов. Понимание особенностей биотехнологических процессов является необходимым условием для эффективного управления рисками, возникающими при производстве менингококковых полисахаридных конъюгированных вакцин.

Риск-ориентированный подход в биотехнологической промышленности – это метод управления, который направлен на выявление, анализ, оценку рисков и разработку мероприятий по их снижению. Такой подход в производстве менингококковых вакцин помогает системно выявлять потенциальные проблемы и вводить превентивные меры для их предотвращения. Это обеспечивает высокие стандарты качества и безопасности готовой продукции, а также способствует непрерывному совершенствованию процессов. Риск-ориентированный подход в производстве вакцин, в т.ч. менингококковых, заключается в том, что все критические аспекты процесса планируются и контролируются с учетом их потенциального влияния на качество и безопасность продукта.

Актуальность исследования

Менингококковая инфекция представляет собой глобальную угрозу здравоохранению, затрагивая людей независимо от возраста и места проживания. Эта инфекция способна привести к смерти в течение 24 ч и оставить каждого пятого выжившего с необратимыми последствиями для здоровья. Из-за высокой резистентности менингококков к антибиотикотерапии эффективным методом борьбы с менингококковой инфекцией является вакцинация [2]. Инфекции, вызываемые патогенами-менингококками, распространены как в России, так и в мире. Наиболее часто заболевания вызываются серогруппами W и B, а также серогруппами A, C, Y [3]. На данный момент в России отсутствуют вакцины, защищающие от серогруппы B, что является летальной угрозой для населения и проблемой отечественного здравоохранения.

Значимость медицинских, социальных и экономических последствий менингококковой инфекции напрямую коррелирует со сложностью и ответственностью процесса ее профилактики, в частности производства вакцин. Современное производство иммунобиологических препаратов, к которым относятся вакцины, – это высокотехнологичный процесс, сопряженный с повышенными рисками, способными повлиять на качество, безопасность и эффективность конечного продукта. Для минимизации этих рисков и обеспечения стабильного выпуска безопасных и эффективных вакцин, в т.ч. в условиях необходимости импортозамещения, критически важно внедрение системного риск-ориентированного подхода.

Актуальность такого подхода обусловлена несколькими ключевыми факторами:

Обеспечение качества и безопасности на всех этапах жизненного цикла продукта. Производство менингококковых вакцин, как и других биопрепаратов, включает множество критических стадий – от получения и поддержания производственных штаммов до культивирования, инактивации, многоступенчатой очистки, формулирования и розлива. Каждый из этих этапов несет потенциальные риски, такие как контаминация, изменение генетических свойств микроорганизмов, неполное удаление примесей (например, эндотоксинов) или потеря антигенной активности. Риск-ориентированный подход позволяет идентифицировать критические контрольные точки и внедрить превентивные меры на самых ранних этапах разработки и производства.

Соответствие современным регуляторным требованиям. Внедрение риск-ориентированного мышления стало обязательным требованием международных и национальных стандартов в области надлежащей производственной практики (GMP). Регуляторные органы, в т.ч. в рамках Евразийского экономического союза, переходят к планированию фармацевтических инспекций именно на основе оценки рисков конкретного производства. Национальным стандартом, систематизирующим применение методологических инструментов в процессе управления рисками производственного процесса, является ГОСТ Р 58969-2020 «Менеджмент риска. Управление технико-производственными рисками промышленного предприятия».

Непрерывное совершенствование и повышение эффективности. Риск-ориентированный подход способствует не только предотвращению инцидентов, но и непрерывному совершенствованию производственных процессов. Он позволяет не просто реагировать на отклонения, но и прогнозировать их, накапливать данные для анализа, оптимизировать технологические параметры и в конечном итоге повышать стабильность и предсказуемость результатов. Это напрямую влияет на экономическую эффективность производства и укрепляет доверие к отечественной фармацевтической продукции.

Таким образом, системное применение риск-ориентированного подхода на всех этапах разработки и производства менингококковых вакцин является не просто методологической рекомендацией, а необходимым условием для выпуска качественного, безопасного и эффективного препарата, способного решить актуальную проблему здравоохранения – обеспечить защиту населения от этой тяжелой инфекции.

Цель настоящего исследования заключается в том, чтобы дать характеристику основным процессам производства менингококковых вакцин и оценить возможные риски, связанные с этими процессами, а также предложить новые методы контроля и управления рисками на основе оценки процессов.

Риск-ориентированный подход для производства менингококковых вакцин может быть охарактеризован как систематизированный подход к разработке препарата, инициируемый четко сформулированными целями и акцентирующий внимание на понимании и контроле производственного процесса на основе научных данных и управления рисками качества. В этом подходе важно выделить две ключевых цели.

1. Максимизация понимания продукта и процесса, что необходимо для достижения глубокого, научно-обоснованного понимания всех аспектов разработки и производства. Это подразумевает:

• детальное изучение технологии производства активной фармацевтической субстанции;

• анализ влияния технологических параметров на качественные характеристики;



Рисунок. **Основные риски производства менингококковых вакцин на диаграмме Исикавы.**
Fig. 1. ***The main risks of meningococcal vaccine production in the Ishikawa diagram.***

• исследование факторов стабильности и деградации активной фармацевтической субстанции.

2. Минимизация рисков для пациентов; основной целью является обеспечение максимальной безопасности потребителей через:

• систематическую идентификацию и управление рисками на всех этапах жизненного цикла продукта;

• создание робастных производственных процессов, устойчивых к вариациям;

• разработку комплексных стратегий контроля качества;

• обеспечение воспроизводимости терапевтических эффектов.

Активной фармацевтической субстанцией в контексте полисахаридных конъюгированных вакцин является конъюгированный капсульный полисахарид *Neisseria meningitidis*. Капсульные полисахариды различных серологических групп N. meningitidis отличаются по своей структуре и по физико-химическим свойствам, что определяет их свойства и устойчивость при хранении. Технология производства также влияет на свойства получаемой субстанции, так как может повлиять на сохранность эпитопов капсульного полисахарида, степень их ацетилирования, длину углеводородной цепи, способ связывания с белком носителем. Капсульные полисахариды, особенно серогрупп A и X, из-за своей структуры, более подвержены гидролизу, в связи с чем возникает больше рисков при хранении этих полисахаридов как промежуточных продуктов. Поэтому необходимо контролировать целостность углеводородных цепочек и оценивать возможное изменение их молекулярной массы в связи с гидролизом (в т.ч. в готовом продукте).

Систематический подход к идентификации и оценке рисков

При исследовании сложных проблем полезно разбивать их на подзадачи, структурировать подход к их решению. Для визуализации причинно-следственных связей самой проблемы и поиска путей ее решения часто используют диаграмму Исикавы, которую мы применили для нашего случая анализа рисков при производстве менингококковой вакцины (рисунок).

Критический анализ сырьевых материалов и исходных компонентов

При производстве менингококковых вакцин наиболее важно качество исходных материалов, которые включают в себя прежде всего живые штаммы *N. meningitidis* различных серогрупп (A, C, W, Y). Процесс характеристики данных материалов должен включать множественные уровни контроля.

На молекулярно-генетическом уровне необходимо проведение полногеномного секвенирования штаммов для подтверждения их видовой принадлежности и отсутствия нехарактерных генетических элементов. Фенотипическая характеристика включает определение серотипа штамма, а также оценку экспрессии ключевых антигенов. Генетическая стабильность производственных штаммов требует комплексного подхода:

Создание и поддержание банков клеток включает первичные банки (главную посевную культуру) и рабочие банки (рабочая посевная культура) с полной характеристикой и ограниченным числом пассажей. Ранее упомянутая генетическая стабильность штаммов должна включать анализ ключевых генов, кодирующих синтез капсульного полисахарида.

Для менингококков особенно важен контроль капсульного переключения (capsule switching) – явления, при котором бактерии могут терять способность к синтезу капсульного полисахарида или изменять его тип [4]. Это контролируется путем:

• фенотипического анализа банков на наличие капсульного полисахарида (проверки способности клеток экспрессировать капсульный полисахарид);

• генетического анализа локуса капсульных генов;

• серологического типирования культур;

• анализа стабильности при различных условиях культивирования.

Микробиологический контроль должен исключать присутствие контаминирующих микроорганизмов в образцах, включая бактерии, грибы, микоплазмы и вирусы.

Особое внимание следует уделить происхождению штаммов – они должны быть получены из авторитетных коллекций культур или исследовательских центров с полной документацией истории пассажей. Критически важным является контроль отсутствия контаминантов, которые могут включать компоненты питательных сред, продукты метаболизма других микроорганизмов или химические загрязнители из окружающей среды.

Критический анализ подготовки материалов и окружающей среды

Нахождение в окружающей среде (колбах для культивирования, воздухе производственных помещений), на поверхности оборудования, технических сред контаминантов может критически повлиять на всю производственную среду. Например, некачественная подготовка технических сред, материалов, объектов производства может вызывать контаминацию не только бактериями, но и фагами, которые могут встречаться повсеместно. Нахождение фагов в производственной среде может повлечь за собой непредсказуемые результаты производственных процессов. Фаги широко распространены [5, 6], поэтому необходимо поддерживать валидированные процессы подготовки производственной среды для работы с живой культурой менингококка.

Технологическое оборудование и производственные процессы

Производственный цикл менингококковых вакцин представляет собой сложную многоэтапную систему, каждый элемент которой требует тщательного контроля рисков.

Этап культивирования включает подготовку инокулята из банков рабочих культур, масштабирование от колб до промышленных биореакторов, поддержание оптимальных условий роста (температура, pH, содержание кислорода, концентрация питательных веществ). Риски на данном этапе включают контаминацию посторонними микроорганизмами (прежде всего из производственной среды и от персонала), генетическую нестабильность штамма (уже рассматривалась ранее в разделе об исходных материалах), невозможность поддерживать оптимальные условия культивирования, что приводит к снижению выхода антигена или даже изменению его свойств из-за стрессовых условий для культуры-продуцента.

Этап инактивации и лизиса предполагает использование физических (температура) или химических (формальдегид, фенол) методов для уничтожения жизнеспособных бактерий и высвобождения внутриклеточных антигенов. Риски связаны с неполной инактивацией, чрезмерным воздействием, приводящим к денатурации антигенов, например вследствие гидролиза, и высвобождением больших количеств эндотоксинов, что особенно важно в контексте того, что микроорганизм продуцент *N. meningitidis* является грамотрицательной бактерией.

Контроль эндотоксинов является критическим аспектом для грамотрицательных бактерий:

Менингококки как грамотрицательные бактерии содержат в клеточной стенке липополисахариды (ЛПС), которые являются сильными пирогенами. Наличие пирогенов представляет высокую угрозу для пациента. Последствия от наличия их в препарате очень высоки, поэтому необходимо свести к нулю вероятность их нахождения в препарате. Для этого должна применяться стратегия контроля уровня эндотоксинов, которая может включать:

• оптимизацию условий культивирования для минимизации лизиса клеток. Во время культивирования бактерий лизис микробных клеток может быть вызван сильным механическим воздействием, в частности сдвиговыми напряжениями при интенсивном перемешивании или прохождении по трубопроводам (во время перекачивания культуральной жидкости на следующие стадии технологического процесса). Изменение состава среды из гипертонической в гипотоническую приводит к осмотическому шоку, когда избыточный приток воды вызывает разрыв мембран. Резкие колебания температуры за пределами оптимального диапазона нарушают структуру мембранных липидов и клеточных белков, что также приводит к лизису клеток. Кроме того, накопление в замкнутой системе метаболитов – органических кислот, аммиака и других токсичных продуктов – создает неблагоприятные условия для клеток и способствует их самопроизвольному разрушению. Наконец, значительные отклонения pH от оптимальных значений (обычно 6–8) приводят к нарушению зарядовых взаимодействий в клеточной стенке и мембране, что также может завершиться лизисом. Этими рисками можно управлять при разработке питательных сред для культивирования, а также при поддержании оптимальных условий культивирования, не выходящих за пределы валидированных технологических процессов;

• использование мягких методов инактивации, не приводящих к высвобождению большого количества эндотоксинов. Нагрев клеток *N. meningitidis* вызывает так называемый «стресс внешней мембраны», приводящий к усиленному формированию и выбросу наружу мембранных везикул (OMV), обогащенных эндотоксином [7, 8]. Механизм разворачивается следующим образом. При повышении температуры (обычно до 42–56°C) ускоряется денатурация и неправильное сворачивание белков внешней мембраны и периплазмы. Накопление таких белков создает параплазматический гидростатический и химический стрессы. Одновременно снижается число поперечных сшивок между пептидогликаном и наружной мембраной, что ослабляет механическую связь между ними. В результате в участках повышенного давления возникает выпячивание мембраны с образованием «пузырьков», которые отщепляются от клетки в виде везикул. Поскольку в процессе образования OMV захватывается значительная часть липополисахаридов,

эти пузырьки действуют как естественный носитель эндотоксина;

• включение этапов удаления эндотоксинов в процесс очистки. Тангентальная потоковая фильтрация (TFF) является эффективным методом удаления эндотоксинов (ЛПС) из растворов белков, везикулярных препаратов и других биологических продуктов. Метод основывается на том, что раствор проходит вдоль поверхности мембраны, а не перпендикулярно ей, что снижает засорение пор и повышает селективность разделения по молекулярному весу или размеру агрегатов. В случае ЛПС агрегаты и остатки мембранных везикул обычно имеют эффективный размер от нескольких десятков до сотен нанометров, а их мономерные компоненты – молекулярную массу ~10–20 кДа. Один из способов усилить удаление эндотоксинов – предварительная обработка раствора этилендиаминтетраацетата (ЭДТА). ЛПС в мембране внешней клеточной стенки грамотрицательных бактерий стабилизированы двухвалентными катионами Mg^{2+} и Ca^{2+}, которые связывают полифосфатные участки молекул. При добавлении ЭДТА (обычно в концентрациях 1–10 мМ, pH 7,0–8,0) происходит хелатирование этих ионов, что приводит к частичному «расшатыванию» липидного бислоя и образованию везикул, а также уменьшению агрегированности ЛПС. В результате образуются более мелкие фрагменты и мономеры ЛПС, легче удаляемые при прохождении через мембрану TFF [9, 10].

Еще одним эффективным этапом очистки от эндотоксинов является использование гидрофобной хроматографии. Молекулы эндотоксинов за счет больших гидрофобных участков особенно сильно связываются с сорбентом, таким образом можно добиться разделения капсульного полисахарида от эндотоксинов [11, 12];

• использование химических веществ для нейтрализации эндотоксинов [13];

• мониторинг уровня эндотоксинов на всех этапах производства для отслеживания уровня их снижения и оценки применяющихся мер по снижению уровня эндотоксинов.

Этот мониторинг играет ключевую роль в обеспечении безопасности и качества конечного продукта, особенно если речь идет о парентеральных препаратах и вакцинах. Для этого на каждом важном этапе технологического процесса (например, после культивирования, лизиса клеток, этапов очистки, перед и после финальной фильтрации) отбираются пробы для анализа содержания эндотоксинов, что позволяет своевременно обнаруживать критические точки возможного проникновения или накопления эндотоксинов, а также отслеживать эффективность каждого этапа очистки. Используются чувствительные и валидированные методы анализа, в первую очередь LAL-тест в различных вариантах исполнения. Важно применять такие методики, эффективность и точность которых проверена для каждого типа анализируемого материала, а также протестирована на возможные помехи от компонентов среды. Таким образом достигается достоверность результата на всех этапах. Мониторинг тесно связан с критически важными контрольными точками производственного процесса. Если на каком-либо этапе фиксируют превышение допуска по уровню эндотоксинов, незамедлительно принимаются меры коррекции: можно применить повторную или усиленную очистку, корректировку процесса фильтрации или изменение выбора очистки, если привести показатели в норму невозможно. Для оценки эффективности применяемых мер по снижению уровня эндотоксинов данные мониторинга анализируются в динамике. Изучаются показатели до и после таких процедур, как обработка ЭДТА, применение детергентов или добавление дополнительных фильтрационных этапов. Это позволяет не только контролировать качество, но и совершенствовать саму технологию производства, выявляя наиболее эффективные методики и своевременно их внедряя. Таким образом, система мониторинга эндотоксинов на всех этапах разработки производства позволяет не только контролировать процесс, но и анализировать, насколько действенны текущие меры по очистке, и при необходимости оперативно совершенствовать технологический цикл.

Этап очистки и концентрирования включает хроматографические методы, ультрафильтрацию, диафильтрацию для выделения целевых антигенов и удаления примесей. Потенциальные риски включают потерю антигенной активности, неполное удаление примесей, перекрестную контаминацию между партиями.

Ключевыми рисками процессов ультрафильтрации и хроматографической очистки при производстве фармацевтических субстанций являются потеря биологической активности целевого продукта, неполное удаление примесей и перекрестная контаминация. Потеря целевого продукта при ультрафильтрации может быть вызвана адсорбцией на материале мембраны, проскоком продукта через мембрану или локальным перегревом и потерями вследствие гидролиза. Контроль над этими рисками осуществляется составлением материального баланса и изучения его трендов, контроля нахождения целевого продукта в ретентате. Управление рисками включает корректный подбор мембраны, использование насосов с низким сдвиговым усилием (например, мембранных вместо перистальтических), контроль температуры и pH во время процессов и проведение предварительных тестов на адсорбцию целевого продукта на материал мембраны.

Другим критическим аспектом является неполное удаление примесей, таких как ионы, эндотоксины или низкомолекулярные белки, вследствие недостаточного объема диафильтрации, неоптимальных параметров буфера или низкого коэффициента отсечения мембраны. Контроль возможно проводить путем измерения проводимости и pH пермеата и ретентата в режиме реального времени, а также анализа на остаточные примеси. Стратегия минимизации риска включает расчет и валидацию необходимых объемов диафильтрации и строгий входной контроль качества буферных растворов. Кроме того, значительный риск представляет собой образование гелевого слоя и забивание мембраны из-за высокой концентрации капсульного полисахарида, что возможно контролировать во время процесса по падению потока пермеата. Управление данным процессом возможно за счет оптимизации параметров диафильтрации и регулярными (после каждого процесса) процедурами очистки мембран.

В хроматографической очистке одним из основных рисков, влияющих на качество и безопасность, выступает перекрестная контаминация между партиями, обусловленная неполной отмывкой или регенерацией сорбента. Для предотвращения такой контаминации для продуктов исполь-

зуются выделенные сорбенты, а для колонок и хроматографических систем разрабатываются процедуры очистки. Предотвращение контаминации оборудования достигается за счет использования валидированных протоколов очистки. Не менее важен риск неполного удаления примесей из целевого продукта, таких как белки клеток-продуцентов, остаточная ДНК, по причине неоптимальных условий хроматографии или деградации колонки. Для управления этим риском требуется анализ всех фракций, а в основе управления риском лежат тщательная разработка процесса и регулярный мониторинг эффективности колонки через тесты теоретических тарелок и асимметрии пика, проводимые перед хроматографической очисткой.

Важно отметить возможность внедрения автоматизации процессов диафильтрации и хроматографической очистки, прежде всего для минимизации человеческого фактора, использование валидированных протоколов очисток оборудования и систем, использование выделенных кассет и сорбентов для каждого продукта, а также поддержание высокого уровня компетенции персонала. Совокупность этих мер позволяет создать робастный и воспроизводимый производственный процесс, гарантирующий соответствие фармацевтической субстанции предъявляемым требованиям по качеству, безопасности и эффективности.

Этап формулирования предполагает смешивание очищенных антигенов с адъювантами, стабилизаторами, консервантами и буферными системами. Риски связаны с неправильным соотношением компонентов, нестабильностью готовой формулы, взаимодействием компонентов, приводящим к потере активности.

Этап формулирования (буферного обмена и компоновки) готовой лекарственной формы является критически важным для обеспечения стабильности, безопасности и эффективности конечной вакцины. Помимо очевидных рисков, таких как неправильное соотношение компонентов или нестабильность готовой формулы, существует комплекс более сложных и потенциальных проблем.

Потеря антигенной активности является центральным риском, выходящим за рамки простого химического взаимодействия. Она может быть вызвана агрегацией конъюгатов, индуцированной адъювантами. Солевые адъюванты на основе алюминия или масляные эмульсии могут создавать обширную границу раздела фаз, где происходит денатурация и последующая агрегация белка, что не только снижает иммуногенность, но и повышает реактогенность препарата. Аналогично, неоптимальный pH или ионная сила буферной системы могут катализировать процессы окисления, деамидирования или протеолиза, ведущие к постепенной деградации антигена. Этот риск усугубляется при масштабировании процесса, где параметры смешивания труднее контролировать, что может вызывать условия, приводящие к денатурации или преципитации [14].

Риск неполного удаления примесей, который мог быть недооцен на предыдущих этапах, непосредственно проявляется здесь. Остаточные, даже следовые, количества белков продуцента, остаточных ДНК или лигандов из хроматографических смол, использующихся при очистке, могут вступать в непредсказуемые взаимодействия с вспомогательными компонентами. Эти примеси могут катализировать деградационные процессы, способствовать агрегации или сами выступать в качестве нежелательных антигенов, изменяя профиль безопасности вакцины.

Риск перекрестной контаминации между партиями приобретает новое измерение на этапе формулирования. Если производственная линия используется для разных продуктов, остатки активных фармацевтических субстанций или адъювантов в оборудовании (смесительных емкостях, линиях розлива) могут загрязнить последующие партии. Это особенно критично для высокоактивных веществ, где даже следовые количества могут вызвать нежелательные эффекты.

Существенные риски связаны с гетерогенностью и неоднородностью конечной смеси. Неоптимальные условия смешивания (недостаточная скорость, неподходящая конструкция мешалки, слишком короткое время) могут привести к недостаточной дисперсии адъюванта, особенно если он представляет собой суспензию (гидроксид или фосфат алюминия). В результате формируется нестабильная, седиментирующая система, где доза антигена, адсорбированного на частицах адъюванта, будет варьироваться от флакона к флакону. Это напрямую влияет на эффективность и воспроизводимость иммунного ответа. Обратная ситуация – слишком интенсивное перемешивание – может разрушить адъювантные частицы или десорбировать антиген с их поверхности, а также привести к пенообразованию и денатурации антигена на границе раздела воздух–жидкость.

Белково-полисахаридные антигены, особенно в низких концентрациях, могут значительно адсорбироваться на материалах оборудования (стенки реактора, трубы) и первичной упаковки (стекло, резиновая пробка). Это приводит к неконтролируемой потере эффективной концентрации. Компоненты упаковки могут выщелачиваться (ионы цинка, серы из пробки) и взаимодействовать с формулой, выступая как катализаторы деградации или нежелательные вещества.

Микробиологический риск все еще остается актуальным. Неасептическое проведение процесса, нестерильность компонентов (некоторые адъюванты и суспензии нельзя стерилизовать фильтрацией) или недостаточная концентрация консерванта могут привести к контаминации на самой критичной финальной стадии. Микробиологическая контаминация остается наихудшим сценарием, поскольку продукт более не подвергается стерилизующей фильтрации. Риск возникает не только из-за нестерильного воздуха или нарушений персоналом асептических практик, но и из-за скрытых, трудно обнаруживаемых причин. К ним относятся микроперфорации шлангов и мембран насосов, через которые происходит подсос нестерильного воздуха, неэффективность стерилизующих фильтров-прекурсоров, установленных перед точкой розлива, или образование в труднодоступных частях оборудования биопленки, которая становится постоянным источником контаминации.

Неточность дозирования – это не просто риск недостатка вложения или переложения активного вещества, что напрямую влияет на эффективность препарата. Данная проблема может носить системный характер: постепенное отклонение калибровки насосов в течение длительной рабочей смены, образование пены в продукте из-за неправильной скорости розлива, что приводит к захвату пузырьков и недоливу, или даже адсорбция высокоактивного вещества на стенках тру-

бок и клапанов дозирующей системы, что искажает реальную концентрацию в первых дозах после запуска линии.

Этап розлива и укупорки является завершающим и одним из наиболее критичных в производстве. Любой инцидент на этой стадии может сделать всю предыдущую, идеально проведенную работу бесполезной, напрямую угрожая безопасности пациента.

Для комплексного управления этими рисками необходим холистический подход, включающий принципы «качества путем проектирования» (Quality by Design). Это предполагает тщательный подбор и совместимость компонентов на ранних стадиях разработки, оптимизацию и валидацию параметров смешивания и розлива (используя методы статистического планирования экспериментов), строгий контроль качества всех входящих материалов, проведение всесторонних исследований совместимости с первичной упаковкой и стабильности, а также валидацию процедур очистки всего многоразового оборудования для минимизации перекрестной контаминации.

Человеческий фактор и управление персоналом

Квалификация персонала в производстве биологических препаратов имеет критическое значение. Сотрудники должны проходить регулярное обучение по принципам GMP, микробиологии, асептическим техникам, использованию технологического оборудования.

Программа обучения должна включать теоретические знания о биологии менингококков, механизмах действия вакцин, критических точках контроля в производственном процессе. Практическая подготовка должна охватывать навыки работы в асептических условиях, использование защитного оборудования, процедуры деконтаминации, отбор проб для контроля качества.

Оборудование, с которым работает персонал, должно быть защищено от несанкционированного доступа, а также для всех производственных процессов должны быть введены методы «защиты от ошибок», а также большую часть процессов стоит сделать автоматизированными, чтобы уменьшить влияние оператора на них.

В контексте работы персонала с живым возбудителем, необходимо проводить медицинский контроль персонала. Эти мероприятия должны включать регулярные обследования на наличие инфекционных заболеваний, вакцинацию против менингококковой инфекции, мониторинг состояния здоровья при работе с потенциально опасными материалами.

После детального выявления и анализа потенциальных рисков на всех этапах производства, включая очистку, формулирование и розлив, критически важным этапом становится внедрение системы мер по управлению теми рисками, которые невозможно полностью устранить путем технической модернизации оборудования или организационных изменений. Это предполагает переход от их идентификации к фазе активного контроля и постоянного мониторинга.

В контексте современного биотехнологического производства, и в частности – производства менингококковых вакцин, наличие комплексной и эффективной программы контроля рисков является не просто рекомендацией, а обязательным условием. Такое производство характеризуется исключительной сложностью: использование живых микроорганизмов, многоступенчатые процессы очистки, высочайшие требования к асептике и стабильности готового препарата. Без всеобъемлющей системы управления рисками, включающей валидационные протоколы, статистический мониторинг процесса, автоматизированные системы контроля в реальном времени и планы корректирующих и предупреждающих действий, невозможно гарантировать стабильное качество, безопасность и эффективность каждой серии препарата. Система контроля рисков служит основным инструментом, обеспечивающим не только соответствие нормативным требованиям, но и защиту здоровья пациентов (таблица).

Таблица. **Стратегии контроля рисков**
*Table. **Risk control strategies***

Микробиологические риски / *Microbiological risks*	Риски примесей / *Microbiological risks*	Риски стабильности / *Stability risks*	Риски, связанные с процессом / *Process-related risks*
Валидация процедур стерилизации и дезинфекции / *Validation of sterilization and disinfection procedures*	Контроль остаточных инактивирующих агентов / *Monitoring residual inactivating agents*	Исследования стабильности в реальном времени и ускоренные тесты / *Real-time stability studies and accelerated testing*	Непрерывный мониторинг с системами сигнализации / *Continuous monitoring with alarm systems*
Регулярный мониторинг окружающей среды / *Regular environmental monitoring*	Контроль компонентов питательных сред / *Monitoring nutrient media components*	Анализ продуктов деградации / *Degradation product analysis*	Квалификация всего технологического оборудования / *Qualification of all process equipment*
Использование методов экспресс-детекции микроорганизмов (ПЦР) / *Use of rapid microbial detection methods (PCR)*	Контроль очистки хроматографических сорбентов / *Monitoring chromatographic sorbent purification*	Мониторинг агрегации и фрагментации / *Aggregation and fragmentation monitoring*	Использование систем автоматического контроля процесса / *Use of automatic process control systems*
Программы борьбы с биопленками / *Biofilm control programs*	Контроль буферных и вспомогательных растворов / *Monitoring buffer and auxiliary solutions*	Контроль окислительных процессов / *Oxidation process monitoring*	Статистически обоснованные планы отбора / *Statistically validated sampling plans*
Входной контроль качества поступающих материалов и сырья / *Incoming quality control of incoming materials and raw materials*	Контроль остаточных реагентов и примесей / *Monitoring residual reagents and impurities*	Контроль сорбции и десорбции / *Sorption and desorption monitoring*	Обучение персонала / *Staff training*

В современном фармацевтическом производстве, особенно при выпуске стерильных препаратов, контроль микробиологических рисков является критически важным элементом системы качества. Он обеспечивается не разрозненными мероприятиями, а комплексом взаимосвязанных стратегий, образующих многоуровневую защиту.

Основу предупреждения контаминации закладывает строгий входной контроль сырья и материалов. Каждая партия проверяется на соответствие микробиологическим спецификациям, что позволяет исключить проникновение контаминантов в процесс на самой ранней стадии. Для борьбы с уже существующими рисками необходимы валидированные процедуры стерилизации.

Внимание стоит уделять также и борьбе с устойчивыми биопленками, которые могут сформироваться в оборудовании и трубопроводах. Для этого применяется комплекс мер, включающий санитарный дизайн коммуникаций, регулярные промывки и химическую обработку для разрушения защитного матрикса. Эффективность всех этих процедур отслеживается через программу регулярного мониторинга окружающей среды. Систематический отбор проб воздуха и с поверхностей в чистых помещениях позволяет не только обнаруживать отклонения, но и анализировать тенденции, предотвращая потенциальные инциденты.

Для увеличения эффективности контроля рисков возможно ввести стратегию использования методов экспресс-детекции, таких как полимеразная цепная реакция (ПЦР). Они позволяют идентифицировать виды контаминантов за часы, а не дни, как в случае с традиционными микробиологическими контролями (инкубацией микроорганизмов), что критически важно для оперативного расследования отклонений. В совокупности эти стратегии образуют единый контур контроля, где валидация обеспечивает базу этого контроля, а мониторинг – обратную связь по эффективности принятых мероприятий.

Основные мероприятия контроля рисками

• Создание многоступенчатой системы контроля: от входного контроля сырья до детального анализа качества готовой вакцины.

• Четкая регламентация критических параметров и постоянный мониторинг (онлайн-анализ, регулярный отбор проб, контроль в реальном времени).

• Проектирование процесса с учетом рисков на стадии разработки, для сокращения вероятности ошибок на производстве.

• Дублирование критического оборудования (редундная система), резервные источники энергии, аварийные планы на случай отклонений от нормальных условий производства.

Регулярное обновление риска-анализа на основе полученных данных и новых научных и технологических достижений (применение новых методов анализа, внедрение автоматизации).

Заключение

Таким образом, риск-ориентированный подход в производстве менингококковых вакцин помогает системно выявлять потенциальные проблемы и вводить превентивные меры для их предотвращения. Это обеспечивает высокие стандарты качества и безопасности готовой продукции, а также способствует непрерывному совершенствованию процессов.

Использование риск-ориентированного подхода призвано внести большую системность к оценке качества каждого аспекта, задействованного в производстве менингококковых вакцин. Разработка производства в рамках риск-ориентированного подхода приводит к более глубокому пониманию процесса, что означает упрощение совершенствования методов и увеличение эффективности производства. При выборе стратегии разработки необходимо учитывать весь жизненный цикл производства, от лабораторного масштаба до промышленного производства. Эффективное применение такого подхода необходимо для получения его преимуществ, и для достижения этих цели от производителя требуется глубокий опыт и понимание процессов, чтобы лучше идентифицировать и управлять рисками и ошибками. Для существующих производств нужно более широкое внедрение статистических подходов, которые должны быть полностью ориентированы на оценку ошибок. Риск-ориентированный подход к производству менингококковых вакцин, могут быть применены в других производствах, имеющих отношение к производству других бактериальных вакцин.

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding

No funding was received for conducting this study and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Черных Т.Ф. – сбор и анализ данных; редактирование текста, концепция и дизайн исследования; Белянкин А.А. – работа с литературными источниками; написание текста статьи.

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

Chernykh T.F. – data collection and analysis; text editing, study concept and design; Belyankin A.A. – literary review; article writing.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература / References

1. ICH Harmonised Guideline. Quality Risk Management Q9. Current Step 4 version, dated 9 November 2005. [Electronic resource]. Available at: https://database.ich.org/sites/default/files/Q9_Guideline.pdf (accessed 01.07.2024).
2. Rodriguez E, Tzeng Y-L, Berry I, Howie R, McNamara L, Stephens DS. Progression of antibiotic resistance in *Neisseria meningitidis*. Clin Microbiol Rev. 2025 Mar 13;38(1):e0021524. DOI: 10.1128/cmr.00215-24
3. Королева МА, Грицай МИ, Чурилова НС, Королева ИС. Эпидемиологические особенности гнойного бактериального менингита в Российской Федерации на современном этапе. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2023;22(4):67-74. / Koroleva MA, Gritsay MI, Churilova NS, Koroleva IS. Epidemiological features of purulent bacterial meningitis in the Russian Federation at the present stage. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2023;22(4):67-74. DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-2-67-74 (In Russian).
4. Tzeng YL, Thomas J, Stephens DS. Regulation of capsule in *Neisseria meningitidis*. Crit Rev Microbiol. 2016 Sep;42(5):759-72. DOI: 10.3109/1040841X.2015.1022507
5. Bille E, Ure R, Gray SJ, Kaczmarski EB, McCarthy ND, Nassif X, et al. Association of a bacteriophage with meningococcal disease in young adults. PLoS One. 2008;3(12):e3885. DOI: 10.1371/journal.pone.0003885
6. Bille E, Zahar JR, Perrin A, Morelle S, Kriz P, Jolley KA, et al. A chromosomally integrated bacteriophage in invasive meningococci. J Exp Med. 2005 Jun 20;201(12):1905-13. DOI: 10.1084/jem.20050112
7. Holst J, Martin D, Arnold R, Huergo CC, Oster P,O'Hallahan J, et al. Properties and clinical performance of vaccines containing outer membrane vesicles from *Neisseria meningitidis*. Vaccine. 2009; 27(Suppl 2):B3-12. DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.04.071
8. McBroom AJ, Kuehn MJ. Release of outer membrane vesicles by Gram-negative bacteria is a novel envelope stress response. Mol Microbiol. 2007 Jan;63(2):545-58. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05522.x
9. Petsch D, Anspach FB. Endotoxin removal from protein solutions. J Biotechnol. 2000 Jan 21;76(2-3):97-119. DOI: 10.1016/s0168-1656(99)00185-6
10. Yamamoto C, Kim ST. Endotoxin rejection by ultrafiltration through high-flux, hollow fiber filters. J Biomed Mater Res. 1996 Nov;32(3):467-71. DOI: 10.1002/(SICI)1097-4636(199611)32:3<467::AID-JBM21>3.0.CO;2-C
11. Hirayama C, Sakata M. Chromatographic removal of endotoxin from protein solutions by polymer particles. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 2002 Dec 5;781(1-2):419-32. DOI: 10.1016/s1570-0232(02)00430-0
12. Ongkudon CM, Chew JH, Liu B, Danquah MK. Chromatographic Removal of Endotoxins: A Bioprocess Engineer's Perspective. International Scholarly Research Notices. 2012 (2012);1-9. DOI: 10.5402/2012/649746
13. Branston SD, Wright J, Keshavarz-Moore E. A non-chromatographic method for the removal of endotoxins from bacteriophages. Biotechnol Bioeng. 2015 Aug;112(8):1714-9. DOI: 10.1002/bit.25571
14. Shardlow E, Mold M, Exley C. Unraveling the enigma: elucidating the relationship between the physicochemical properties of aluminium-based adjuvants and their immunological mechanisms of action. Allergy Asthma Clin Immunol. 2018 Nov 7;14:80. DOI: 10.1186/s13223-018-0305-2

Информация о соавторе:

Черных Татьяна Фёдоровна, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России
0009-0000-1539-8013

Information about co-author:

Tatyana F. Chernykh, PhD, DSc in Parmacentical Sciences, Professor, Head of the Department of Microbiology, Saint Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University
0009-0000-1539-8013

ИИ раскрывает скрытые механизмы иммунной защиты внутри бактерий



У бактерий есть разнообразные иммунные системы, защищающие их от вирусных инфекций, однако полная степень этого разнообразия остается неизвестной. Две группы исследователей независимо друг от друга разработали модели машинного и глубокого обучения, которые используют белковые последовательности и геномный контекст для масштабного прогнозирования антифаговых защитных систем. ДеВейртт (DeWeirdt) и соавторы разработали модель под названием DefensePredictor и применили ее к Escherichia coli, экспериментально подтвердив десятки ранее не охарактеризованных защитных систем. Мордрет (Mordret) и соавторы разработали несколько различных моделей и применили их к более чем 120 миллионам белков из бактериальных геномов, идентифицировав сотни тысяч потенциальных антифаговых семейств, многие из которых ранее не имели никаких аннотаций. Совместно эти исследования показывают, что бактериальный иммунитет гораздо обширнее, чем считалось ранее, и подчеркивают, как подобные открытия могут вдохновлять на создание мощных биотехнологий.

DeWeirdt PC, Mahoney EM, Laub MT.
DefensePredictor: A machine learning model to discover prokaryotic immune systems.
Science. 2026 Apr 2;392(6793):eadv7924. DOI: 10.1126/science.adv7924

Бактериология, 2026, том 11, №2, с. 124–135
Bacteriology, 2026, volume 11, No 2, p. 124–135

DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-124-135

Генотипирование *Yersinia enterocolitica*

Е.В.Ступникова, Р.В.Писанов, А.С.Водопьянов, С.Ю.Темякова, А.А.Ковалевич

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

Обзор посвящен современным методам генотипирования *Yersinia enterocolitica* – возбудителя кишечного иерсиниоза, одного из ведущих бактериальных агентов гастроэнтеритов в умеренных климатических зонах. Рассмотрены традиционные подходы (био- и серотипирование), их ограничения, а также молекулярно-генетические методы: PFGE, MLVA, INDEL, HRMA, cgMLST и др. Показана связь между биотипами, серогруппами и патогенностью, а также рассмотрены ключевые детерминанты вирулентности, такие как *ail*, *ystA*, *yadA*, *virF*, кластер *ysa/ysp*, хромосомный остров высокой патогенности HPI. Отмечено, что традиционные методы типирования имеют недостаточную дискриминирующую силу для изучения выделенных штаммов. Наиболее перспективными подходами признаны MLVA для рутинного мониторинга и WGS (включая cgMLST и SNP-анализ) для высокоточного филогенетического анализа, выявления источников инфекции и расследования вспышек. Полногеномное секвенирование становится более доступным и открывает широкие возможности для всестороннего применения в изучении природно-очаговых инфекций в системах общественного здравоохранения.

Ключевые слова: генетическое типирование, Yersinia enterocolitica, факторы вирулентности, MLVA, INDEL, HRMA, cgMLST, ail, ystA, yadA, virF

Для цитирования: Ступникова Е.В., Писанов Р.В., Водопьянов А.С., Темякова С.Ю., Ковалевич А.А. Генотипирование *Yersinia enterocolitica*. Бактериология. 2026; 11(2): 124–135. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-124-135

Genotyping of *Yersinia enterocolitica*

E.V.Stupnikova, R.V.Pisanov, A.S.Vodopyanov, S.Y.Temyakova, A.A.Kovalevich

Rostov-on-Don Antiplague Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russian Federation

This review is devoted to modern methods of genotyping *Yersinia enterocolitica* – the causative agent of intestinal yersiniosis, one of the leading bacterial agents of gastroenteritis in temperate climate zones. It covers traditional approaches (biotyping and serotyping), their limitations, as well as molecular-genetic methods: PFGE, MLVA, INDEL, HRMA, cgMLST, and others. The review demonstrates the relationship between biotypes, serogroups, and pathogenicity, and examines key virulence determinants such as *ail*, *ystA*, *yadA*, *virF*, the *ysa/ysp* cluster, and the high-pathogenicity island HPI. It is noted that traditional typing methods lack sufficient discriminatory power for studying isolated strains. The most promising approaches are recognized as MLVA for routine monitoring and WGS (including cgMLST and SNP analysis) for high-precision phylogenetic analysis, identification of infection sources, and outbreak investigations. Whole-genome sequencing is becoming more accessible and opens broad opportunities for comprehensive application in studying natural focal infections within public health systems.

Key words: genetic typing, Yersinia enterocolitica, virulence factors, MLVA, INDEL, HRMA, cgMLST, ail, ystA, yadA, virF

For citation: Stupnikova E.V., Pisanov R.V., Vodopyanov A.S., Temyakova S.Y., Kovalevich A.A. Genotyping of *Yersinia enterocolitica*. Bacteriology. 2026; 11(2): 124–135. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-2-124-135

В настоящее время род *Yersinia* включает более 25 видов, три из которых являются патогенными для человека (*Y. enterocolitica*, *Y. pseudotuberculosis*, *Y. pestis*) [1]. *Y. enterocolitica* – распространенный природно-очаговый сапрозоонозный патоген, широко встречающийся в почве, воде, различных продуктах питания и среди животных [2] и являющийся одной из ведущих причин бактериальных гастроэнтеритов в умеренных климатических зонах [3]. По данным Европейского агентства по безопасности пищевых продуктов (EFSA, 2019), Y. enterocolitica ежегодно вызывает десятки тысяч случаев заболеваний иерсиниозом, который является 4-й по частоте острой кишечной инфекцией (ОКИ) в Европе после кампилобактериоза, сальмонеллеза и кишечной палочки, продуцирующей шигатоксин. Кишечный иерсиниоз встречается более чем в 30 странах Западной и Северной Европы, Великобритании, США, Канаде, Японии, России и других странах мира. Среди стран дальнего зарубежья официально кишечный иерсиниоз регистрируется в скандинавских странах, США, Японии, Новой Зеландии. В 2022 г. в 27 странах Европейского союза / Европейской эко-

Для корреспонденции:

Ступникова Елена Вадимовна, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40
E-mail: stupnikova_ev@antiplague.ru
ORCID: 0000-0002-9574-9684

Статья поступила 05.03.2026, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

Elena V. Stupnikova, Researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute of Rospotrebnadzor

Address: 117/40 M.Gor`ky str., Rostov-on-Don, 344002, Russian Federation
E-mail: stupnikova_ev@antiplague.ru
ORCID: 0000-0002-9574-9684

The article was received 05.03.2026, accepted for publication 30.06.2026

номической зоны было зарегистрировано 8037 подтвержденных случаев иерсиниоза [4]. Заболеваемость варьируется в зависимости от страны, метода диагностики и эффективности системы отчетности. Она колеблется от менее 1 случая на 100 000 в США [5] до 19,2 в Новой Зеландии [6]. Тем не менее истинное число заболеваний может быть выше, если учитывать неполное информирование и недостаточную диагностику [7]. Согласно данным референс-центра по мониторингу иерсиниозов [8], нижний порог заболеваемости в Российской Федерации прогнозируется на уровне 1,68 на 100 тыс. населения, верхний – 2,13 на 100 тыс. населения при сохранении проводимых профилактических мероприятий [9]. В этиологической структуре заболеваний, вызванных энтеропатогенными иерсиниями, формируется тенденция к возрастанию доли кишечного иерсиниоза (68,5–72,9%) и снижению доли, приходящейся на псевдотуберкулез [10]. В странах Африки, Азии и Южной Америки заболеваемость кишечным иерсиниозом ниже, чем другими ОКИ.

В литературе описаны вспышки заболевания, вызванные *Y. enterocolitica* в США, Японии, Индии, Норвегии, Австралии, Швеции. Зарегистрированные вспышки были связаны с пищевым фактором передачи. Частой причиной вспышек иерсиниоза в европейских странах является употребление свинины, контаминированной возбудителем серогруппы O:3. Напротив, в США основными причинами вспышек были молочные продукты и овощи. В Монголии была выявлена крупная вспышка, вызванная серотипами O:5,27 и O:9, связанная с продуктами питания. В США, Японии фиксировались семейные вспышки с тяжелыми летальными исходами, вызванные продуктами питания, контаминированными *Y. enterocolitica* серогрупп O:3 и O:21 [11]. В России описаны вспышки заболевания, вызванные употреблением инфицированной воды и овощей.

В нашей стране мониторинг иерсиниозов осуществляется уполномоченными органами на федеральном и региональном уровнях путем государственного эпидемиологического надзора за иерсиниями. Данный надзор представляет собой системное наблюдение за эпидемиологическим процессом иерсиниозов, и его основной целью является учет эпидемической ситуации, связанной с возбудителем. Тем не менее имеются сложности понимания фактического уровня заболеваемости. Объективной причиной неполной картины регистрации кишечных иерсиниозов является отнесение *Y. enterocolitica*, в т.ч. патогенных ее представителей, к IV группе патогенности. В амбулаторных условиях диагностика данной инфекции остается неунифицированной, диагноз ставится с опозданием или вовсе остается в статистике ОКИ неуточненной этиологии. Но, несмотря на очевидно заниженные данные по статистике заболеваемости, среди повсеместно циркулирующих иерсиний в последние годы превалируют *Y. enterocolitica*. Поэтому в настоящее время актуальным является всестороннее и целенаправленное изучение данного микроорганизма [12, 13].

Целью обзора является систематизация и структурирование современных данных об основных методах типирования *Y. enterocolitica*, их сравнительная характеристика эффективности в применении для эпидемиологического надзора, а также перспективы использования данных методов в рутинной диагностике и контроле инфекций. В обзоре проанализированы основные научные публикации последних лет. Включены исследования, посвященные PFGE, MLVA, WGS, MLST и анализу однонуклеотидного полиморфизма основного генома (core SNP), а также основных факторов вирулентности.

Биохимическое и серологическое типирование

Типирование штаммов *Y. enterocolitica* традиционно основывается на биохимических тестах и серотипировании по О-антигену, что позволяет классифицировать вид на 6 биотипов и >70 серогрупп.

Биотипы изолятов *Y. enterocolitica* определяют с помощью стандартных биохимических тестов (табл. 1). На основании различий в метаболизме штаммы традиционно подразделяют на 6 биотипов.

Серологическое типирование проводят с помощью реакции агглютинации на стекле общепринятой методикой с коммерческими диагностическими сыворотками к наиболее часто встречающимся серогруппам (выпускаемыми в Германии и Японии). В России для научных целей данные сыворотки выпускает Институт им. Пастера. Тем не менее на сегодняшний день серологическое типирование иерсиний в ряде регионов России не проводится. Это обусловлено ограниченным набором коммерческих поликлональных диагностических сывороток и отсутствием промышленного производства моноклональных препаратов отечественной разработки. При этом в соответствии с МУ 3.1.1.2438-09 серологическое типирование остается обязательной процедурой, поскольку оно необходимо для определения этиологической значимости выделенных штаммов, а также для регистрации новых сероваринтов. К недостаткам данного метода типирования можно отнести ограниченный набор существующих серологических сывороток, неспецифические реакции из-за антигенного сродства с другими возбудителями, такими как некоторые серогруппы сальмонелл, вибрионов и бруцелл, а также отсутствие международной стандартизации сывороток, что приводит к ограниченной разрешающей способности. В мировой практике большинство лабораторий не проводят биотипирование выделенных штаммов. Серотипирование проводится чаще, но серотип не всегда является надежным индикатором вирулентности. Помимо описанных выше недостатков метода, в корреляции серотип–патогенность некоторые штаммы *Y. enterocolitica* условно-патогенного биотипа 1A содержат серотипы, обычно ассоциируемые с патогенными биотипами (O:3, O:5, O:8, O:13 и т.д.)

Таблица 1. **Биохимические свойства *Y. enterocolitica* [18]**
Table 1. ***Biochemical properties of Y. enterocolitica***

Биохимический тест / *Biochemical test*	Биотип / *Biotype*					
	1		2	3	4	5
	1A	1B				
Липаза/ *Lipase*	+	+	–	–	–	–
Эскулин / *Esculin*	+	–	–	–	–	–
Салицин / *Salicylic acid*	+	–	–	–	–	–
Индол / *Indole*	+	+	+	–	–	–
Ксилоза / *Xylose*	+	+	+	+	–	–
Трегалоза / *Trehalose*	+	+	+	+	+	–

[14], что вызывает трудности в интерпретации данных. Перспективной альтернативой серотипированию штаммов *Y. enterocolitica* является развитие серо-генотипирования по специфическим генам О-антигенного кластера с более стандартизированными процедурами и, следовательно, более высокой эффективностью и специфичностью. По данным литературных источников, в мировой практике существует дифференциация 4 основных серотипов с использованием серотип-специфических праймеров на основе метода полимеразной цепной реакции (ПЦР) [15].

Патогенность и основные детерминанты вирулентности

Y. enterocolitica является крайне гетерогенным микроорганизмом с неоднородным патогенным потенциалом [16, 17]. Были установлены ассоциации между патогенными биотипами и серогруппами *Y. enterocolitica* (табл. 2), их географическим распространением и хозяевами [18]. В мире большинство случаев заболеваний, вызванных *Y. enterocolitica*, приходится на серогруппы O:3 (биотип 4); O:5,27 (биотипы 2 и 3); O:9 (биотип 2) и O:8 (биотип 1B) [14]. В настоящее время комбинация биотипа/серогруппы 4/O:3 представляет собой наиболее часто регистрируемый вариант *Y. enterocolitica*, выделенный из клинических образцов в Европе, за которым по частоте встречаемости следует 2/O:9 [19]. В России основными возбудителями кишечного иерсиниоза являются серотипы O:3 (биотипы 3 и 4) и O:9 (биотип 2). В Японии преобладает сероварианта O:3 (биотип 3). В США доминирующим вариантом является серогруппа O:8, ассоциированная с наиболее патогенным биотипом 1B [16, 20].

Широко распространенный в окружающей среде биотип 1A является довольно гетерогенным и включает в себя широкий спектр серогрупп (O:5, O:6,30, O:6,31, O:7,8, O:10 и др.). До недавнего времени этот биотип считался непатогенным ввиду того, что у большинства штаммов 1A отсутствуют ключевые факторы патогенности. Однако в литературе описана связь данного биотипа с развитием кишечного иерсиниоза, особенно у лиц с ослабленным иммунитетом [21–24], что позволяет нам отнести данный биотип к условно-патогенному, однако способность к инфицированию зависит главным образом от состояния защитной системы организма [25].

Напротив, биотип 1B считается высокопатогенным, а биотипы 2–5 обладают низкой или умеренной патогенностью. Клинические случаи у людей чаще всего ассоциированы с серогруппами O:3; O:5, 27; O:8; O:9 [26]. Данные серогруппы относятся к биотипам 1B, 2–5.

Различия в патогенности *Y. enterocolitica* во многом определяются набором генов вирулентности (табл. 3). Патогенные биотипы (1B, 2–5) характеризуются наличием плазмиды pYV размером 70 кб, тогда как у биотипа 1A данная плазмида отсутствует. Плазмида pYV кодирует гены, ответственные за инвазию и выживании патогена в макроорганизме. Наиболее значимыми плазмидными факторами вирулентности являются гены системы секреции III типа (T3SS), включающей ген адгезин (*YadA*), ген регулятора транскрипции (*virF*) и эффекторы, относящиеся к YOP-вирулону, который кодирует белки наружной мембраны (*Yops*) [18]. Все биотипы *Y. enterocolitica* способны проникать в клетки эпителия кишечника благодаря наличию хромосомного гена *invA* (инвазин A). Однако только штаммы, несущие плазмиду pYV, могут преодолевать местный иммунитет и системно распространяться [21, 27, 28].

К другим важным детерминантам вирулентности, расположенным на хромосоме, относятся локус прикрепления и инвазии (*ail*), стабильный энтеротоксин A (*ystA*) и мукоидный фактор иерсиний (*myfA*). Данный набор генов вирулентности характерен для биотипов 1B и 2–5.

Основным отличием высокопатогенных штаммов *Y. enterocolitica* биотипа 1B от остальных представителей данного вида является наличие хромосомного острова высокой патогенности (HPI). HPI включает кластер генов *irp/ybt*, обеспечивающих синтез и транспорт сидерофора иерсиниабактина, что, в свою очередь, дает селективные преимущества штаммам биотипа 1B в условиях дефицита железа. Таким образом, эволюционно биотип 1B приобрел дополнительные факторы вирулентности [21, 29].

Остальные биотипы не содержат иерсиниабактинового кластера, однако могут улавливать железо за счет систем транспорта сидерофоров хозяина: так, у всех биотипов

Таблица 2. **Биотипы *Y. enterocolitica* и их связь с патогенностью**
Table 2. ***Biotypes of Y. enterocolitica and their relationship with pathogenicity***

Патогенные свойства / *Pathogenic properties*	Биотип / *Biotype*	Серогруппа / *Serogroup*	Распространенность / *Prevalence*
Условная патогенность / *Conditional pathogenicity*	1A	O:5; O:6,30; O:6,31; O:7,8; O:10; O:13,7; O:14; O:16; O:18; O:19,8; O:22; O:36; O:41,42; O:41,43; O:46; O:63; O:64; O:65; O:66; O:72 и др	Повсеместно / *Ubiquitously*
Высокая степень патогенности / *High degree of pathogenicity*	1B	O:8; O:4,32; O:13a; O:13b; O:18; O:20; O:21	США, Северная Америка, Япония, Нидерланды / *USA, North America, Japan, Netherlands*
Умеренная степень патогенности / *Moderate degree of pathogenicity*	2	O:9; O:5,27	Европа, Япония, Северная Америка, Австралия, Швеция, Нидерланды / *Europe, Japan, North America, Australia, Sweden, Netherlands*
Умеренная степень патогенности / *Moderate degree of pathogenicity*	3	O:1,2,3; O:5,27; O:3	Китай, Европа, Австралия / *China, Europe, Australia*
Умеренная степень патогенности / *Moderate degree of pathogenicity*	4	O:3	Европа, Япония, Северная и Южная Америка, Южная Африка / *Europe, Japan, North and South America, South Africa*
Умеренная степень патогенности / *Moderate degree of pathogenicity*	5	O:2,3	Европа / *Europe*

Таблица 3. **Основные детерминанты вирулентности *Y. enterocolitica***
Table 3. ***Main determinants of virulence of Y. enterocolitica***

Ген / *Gene*	Locus tag / *NCBI Reference Sequence*	Функция / *Function*	Локализация / *Localization*	Наличие у штаммов / *Presence in strains*
invA	Y11_RS06755	Кодирует белок инвазин, способствует адгезии и инвазии / *Encodes the invasin protein; promotes adhesion and invasion*	Хромосома / *Chromosome*	Все биотипы / *All biotypes*
ail	Y11_RS00110	Кодирует белок адгезии и инвазии / *Encodes an adhesion and invasion protein*	Хромосома / *Chromosome*	1B,2-5 биотипы / *1B,2-5 biotypes*
ystA	Y11_RS21420	Кодирует термостабильный энтеротоксин A / *Encodes thermostable enterotoxin A*	Хромосома / *Chromosome*	1B,2-5 биотипы / *1B,2-5 biotypes*
ystB	WP_019079716.1 N4222_RS14585	Кодирует термостабильный энтеротоксин B / *Encodes thermostable enterotoxin B*	Хромосома / *Chromosome*	>80% 1A биотип / *>80% 1A biotypes*
myfA	Y11_RS01540	Мукоидный фактор, кодирует образование фимбрий, функция – прикрепление к слизистому слою кишечника / *Mucoid factor, encodes fimbriae formation, function – attachment to the intestinal mucus layer*	Хромосома / *Chromosome*	1B,2-5 биотипы, у части 1A / *1B, 2-5 biotypes, in part of 1A*
ureG	Y11_RS19935	Кодирует уреазу, нейтрализация кислоты в желудке, преодоление барьера / *Encodes urease, neutralization of stomach acid, overcoming the barrier*	Хромосома / *Chromosome*	Все биотипы, не всегда у 1B / *All biotypes, not always at 1V*
HPI	YP_001006815.1 (irp2) YP_001006820.1 (fyuA)	Кластер иерсиниобактина, синтез сидерофора, железосвязывающийи белок / *Yersiniabactin cluster, siderophore synthesis, iron-binding protein*	Хромосома / *Chromosome*	Только 1B биотип / *Only Type 1B biotype*
YSA-кластер ysa/ysp	YP_001007710.1 (ysaI) YP_001007693.1 (yspB)	Колонизация кишечника, выживание в макрофагах / *Intestinal colonization, survival in macrophages*	Хромосома / *Chromosome*	Только 1B биотип / *Only Type 1B biotype*
ymoA	Y11_RS09565	Глобальный репрессор [аналог hha], yersinia modulating protein, экспрессия энтеротоксина / *Global repressor [hha analog], yersinia modulating protein, enterotoxin expression*	Хромосома / *Chromosome*	Все биотипы / *All biotypes*
yadA	Y11_RS20790	Участие в процессе адгезии и инвазии, антифагоцитарная активность. Кодирует белок адгезин / *Involvement in adhesion and invasion processes, antiphagocytic activity. Encodes adhesin protein*	Плазмида / *Plasmid*	1B,2-5 биотипы / *1B,2-5 biotypes*
Ysc (Yops)	Y11_RS20910 (YopH)	ysc-yop система (T3SS). Кодирует белки наружной мембраны / ysc-*yop system (T3SS). Encodes outer membrane proteins*	Плазмида / *Plasmid*	1B,2-5 биотипы / *1B,2-5 biotypes*
virF	Y11_RS20980	Транскрипционный активатор регулона вирулентности *Yersinia* (Yop/YadA) / *Transcriptional activator of the Yersinia virulence regulon (Yop/YadA)*	Плазмида / *Plasmid*	1B,2-5 биотипы / *1B,2-5 biotypes*

Y. enterocolitica обнаружены гены *fepD* и *fes* [30]. Штаммы *Y. enterocolitica*, относящиеся к биотипу 1A, считались непатогенными из-за отсутствия большинства маркеров вирулентности [21, 31]: так, они не содержат плазмиду pYV и обычно не несут гены *ail* и *ystA*. Тем не менее ~85% штаммов содержат ген *ystB*, который кодирует продукцию энтеротоксина. Кроме того, у большинства штаммов 1A выявляется ген *hreP*, кодирующий секретируемую протеазу, и все представители имеют гены уреазного кластера (*ure*). Также ~10% штаммов несут ген мукоидного фактора – *myfA*, который на 44% идентичен *PsaA*, основной субъединице антигена pH6 *Y. pestis* [21, 32, 33]. По литературным данным, штаммы биотипа 1A становятся преобладающим агентом, вызывающим кишечный иерсиниоз в европейских странах. Исследование пациентов с диареей в Финляндии также показало, что большинство изолированных штаммов *Y. enterocolitica* относились к биотипу 1A и почти всегда данные клинические штаммы имеют ген *ystB* (и продуцируют энтеротоксин типа B), часто – ген *hreP* и иногда *myfA*, тогда как изоляты из окружающей среды могут не иметь ни одного из перечисленных генов. Также Joutsen et al. было выявлено, что ген *ail*, который обычно встречается только в изолятах биотипов 1B и 2–5, связанных с иерсиниозом, в 23% случаев выявлялся у непатогенных изолятов биотипа 1A, выделенных от диких мелких млекопитающих [34]. Все это говорит о потенциальной способности представителей данного биотипа 1A вызывать заболевание при благоприятных условиях или высокой дозе.

Таким образом, все представленные данные указывают на то, что патогенность *Y. enterocolitica* не может быть достоверно установлена исключительно на основе биосеротипирования. Следовательно, типирование штаммов представляет собой важный инструмент для эффективного эпидемиологического надзора, расследования вспышек и идентификации источника инфекции. Система типирования должна обеспечивать кластеризацию изолятов, относящихся к одному источнику, и исключать неродственные штаммы. Био- и серотипирование не обладают достаточной дискриминационной способностью для выполнения этих задач [6]. Это обусловливает необходимость применения дополнительных методов субтипирования.

Молекулярно-генетические методы типирования

Помимо высокой дискриминационной способности, оптимальная схема типирования для рутинного эпидемиологического надзора и расследования вспышек должна иметь высокую скорость получения результата, воспроизводимость, простоту в исполнении, интерпретации и иметь низ-

кую себестоимость. К важным параметрам относятся возможность сопоставления результатов, полученных разными лабораториями, наличие общедоступных баз данных и международной номенклатуры. В связи с этим молекулярное генотипирование стало стандартом в современных лабораториях. Основная задача генотипирования – внутривидовая дифференциация микроорганизмов на основе различий их геномов, геномная паспортизация и определение филогенетических связей штаммов микроорганизмов. На сегодняшний день разработано множество молекулярно-генетических методов, применяемых для изучения эпидемиологической характеристики бактериальных изолятов [35].

PFGE – метод фракционирования крупных фрагментов ДНК (от 10 тыс. п.н. до 10 млн п.н.) с помощью импульсного (меняющегося по направлению) электрического поля после предварительной обработки хромосомы эндонуклеазами рестрикции, расщепляющими нуклеиновые кислоты в специфических «сайтах узнавания». Полученные фрагменты ДНК отличаются по количеству и размерам у разных штаммов и анализируются с помощью гель-электрофореза. Стабильность результатов PFGE при соблюдении условий протокола позволила создать базы данных для большинства видов бактерий. Долгое время этот метод считался золотым стандартом, однако выяснилось, что его разрешающая способность недостаточна для точного различения вспышечных штаммов: хотя PFGE-типирование *Y. enterocolitica* обеспечивает высокую дискриминацию изолятов биотипа 1A, его эффективность резко снижается при анализе биотипов 2–4 – в значительной мере из-за ограниченного спектра рестрикционных ферментов, подходящих для типирования этих штаммов [36]. Для биотипов 2–4 профили PFGE-изолятов, связанных со вспышками, могут быть неотличимы от профилей спорадических изолятов, что может привести к ошибочным выводам о взаимосвязи между случаями [6]. Пульс-электрофорез отлично зарекомендовал себя при расследовании вспышек инфекционных заболеваний и установлении филогенетических связей различных штаммов. К недостаткам метода можно отнести трудоемкость, продолжительное время выполнения (3–5 дней), вероятность резкого изменения электрофоретического профиля из-за единичной мутации, а также невозможность прямого сравнения данных без стандартизации [35], что существенно ограничивает его применение для рутинных исследований.

Метод MLVA (Multilocus Variable-number tandem-repeat Analysis – мультилокусный анализ вариабельных тандемных повторов) основан на детекции тандемно расположенных повторяющихся нуклеотидных последовательностей, количество которых варьирует между штаммами микроорганизмов. Каждый штамм характеризуется определенным профилем повторов, что позволяет дифференцировать их друг от друга. Такие повторы подразделяются по длине на несколько классов: VNTR (variable number tandem repeat – >7 нуклеотидов), SSR (simple sequence repeat – 2–6 нуклеотидов) и SNR (single nucleotide repeat). В рамках MLVA-типирования, как правило, используются только VNTR- и SSR-локусы. Техническая реализация данного метода типирования может осуществляться с применением различных электрофоретических подходов. Данный метод обеспечивает лучший дискриминационный потенциал, чем PFGE. В последние десятилетия для генетического типирования *Y. enterocolitica* был разработан ряд схем многолокусного анализа тандемных повторов с переменным числом (MLVA), обеспечивающих улучшение дискриминационной способности по сравнению с PFGE, однако исследования гипервариабельных локусов дают лишь ограниченное представление обо всей генетической информации, присутствующей в бактериальной ДНК [37]. MLVA особенно эффективен для типирования серотипов O:3 и O:9, где он показал высокую дискриминацию и воспроизводимость. Данный метод используется в национальных программах надзора во многих странах. Анализ российских работ по MLVA-типированию иерсиний показал ограниченные данные по *Y. enterocolitica* и большое количество работ, посвященных VNTR-типированию *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* [38, 39]. В международном VNTR-исследовании финские ученые провели MLVA-типирование свиных штаммов *Y. enterocolitica* 4/O:3 серотипа из 8 европейских стран, включая российские изоляты (60 штаммов из 10 ферм), которые продемонстрировали большее разнообразие VNTR-профилей по сравнению с некоторыми другими странами. Использовались 6 VNTR-локусов (V2A, V4, V6, V7, V9) с высокой дискриминационной способностью. Также был обнаружен один общий MLVA-тип между российскими и итальянскими штаммами [40]. MLVA-типирование является высокоэффективным и простым методом генетического типирования иерсиний. Однако его разрешающая способность иногда оказывается недостаточной для дифференциации штаммов с минимальными различиями в числе тандемных повторов, что требует применения дополнительных методов диагностики. К преимуществам MLVA можно отнести высокую разрешающую способность, быстроту выполнения и относительно низкую стоимость, он подходит для рутинного эпиднадзора. Недостатком является ограниченная универсальность: наборы VNTR-локусов могут отличаться в разных лабораториях. Также отсутствует возможность анализировать гены вирулентности напрямую [41].

INDEL (INsertion-DELetion). Одним из перспективных методов молекулярного типирования является INDEL-типирование, основанное на определении «вставок-делеций» в различных генах, что позволяет выявлять индивидуальные различия между штаммами микроорганизмов. Помимо генотипирования, метод применяется для определения генеза вспышки заболевания, источника инфекции и возможных маршрутов заноса. Ранее уже была показана возможность использования INDEL-типирования для изучения штаммов других микроорганизмов, таких как *Vibrio cholerae*, *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и *Francisella tularensis* [42–44]. Согласно данному методу, искомый ген содержит всего лишь два варианта аллеля («вставка» и «делеция») [45]. Для повышения дискриминирующей способности целесообразно использовать INDEL-типирование в сочетании с традиционным VNTR-анализом [42, 46]. В настоящее время нет разработанной схемы INDEL-типирования для штаммов *Y. enterocolitica* различного происхождения. Вместе с тем данная схема позволила бы оценить филогенетические связи между различными штаммами для определения их распространения и циркуляции в природных очагах. Данный метод экономичен, быстро воспроизводим и имеет высокую

дискриминирующую силу. Нет необходимости иметь чистую культуру и полногеномную последовательность микроорганизма.

Методы, основанные на основанные на детекции генов вирулентности. Одним из наиболее распространенных методов типирования *Y. enterocolitica* является детекция ДНК-зондами в ПЦР участков генома, ассоциированных с вирулентностью, в частности генов *ail* (локус адгезии и инвазии), *invA* (инвазин) и *yst* (термостабильный токсин *Yersinia*). Эти подходы получили широкое распространение благодаря высокой скорости, экономичности и удобству автоматизации, а также простоте выполнения и интерпретации результатов. В основном в ПЦР в качестве мишеней для детекции *Y. enterocolitica* используются хромосомные гены вирулентности, указанные выше. Кроме того, применяются и плазмидные гены вирулентности, такие как *yadA* и *virF*, хотя они считаются менее стабильными маркерами [47]. Так, в Англии с целью улучшения обнаружения кишечного иерсиниоза для ускоренной диагностики гастроэнтеритов метод мультиплексной ПЦР был применен ко всем образцам стула при диарее, что привело практически к 100-кратному увеличению числа положительных проб по сравнению с традиционным культивированием. ~20% изолятов были отнесены к биотипу 1A [48]. Garzetti et al. провели анализ кластеров генов О-антигена коллекции штаммов *Y. enterocolitica* различных серотипов, выявили и выбрали мишени для серотип-специфической амплификации. Авторы разработали подход серотипирования *Y. enterocolitica*, где методом мультиплексной ПЦР определяется вид и подвид с использованием маркеров 16SRNA, *invA*, *ail* и *ystB*, а с использованием специфичных праймеров (rfbC/wbbU/wbcA/wzt) типируются основные серогруппы O:3, O:9, O:8 и O:5,27. Эта схема может быть применена для надежной идентификации основных патогенных сероваринтов *Y. enterocolitica* [15]. Методы типирования, основанные на генах вирулентности, могут не давать результатов при обнаружении патогенных штаммов, не содержащих этих типичных факторов вирулентности [49]. На сегодняшний день отсутствует единый комплексный молекулярный метод для одновременной специфичной идентификации и типирования всех сероваринтов вида *Y. enterocolitica* [15]. Тем не менее данный подход является полезным инструментом для выявления потенциальных вспышек и наблюдения, но его применение может быть ограничено [31]. Набор генов патогенности служит основой для молекулярного типирования *Y. enterocolitica*. Это подразумевает классификацию изолятов по профилю присутствия или отсутствия ключевых генов вирулентности и определение вирулотипа (virulotyping) на основе их комбинации. Такой подход дополняет классические методы типирования и позволяет быстро оценить патогенный потенциал и происхождение штаммов. Например, обнаружение у нескольких изолятов из разных источников идентичного набора генов (*inv+*, *ail+*, *yadA+*, *ystA+*, *ystB-*, *virF+*) указывает, что все они принадлежат к одному типу (вирулотипу) и, вероятно, эпидемиологически связаны. Так, в недавнем исследовании в Польше 51 штамм *Y. enterocolitica* от свиней, диких кабанов и людей был охарактеризован по 11 генам вирулентности и разделен на 20 разных профилей (вирулотипов). Большинство изолятов от сельхоз животных оказались однородны: 71% принадлежали к вирулотипу, соответствующему биовару 4/0:3 (наличие *ail*, *inv*, *ystA*, *myfA*, *hreP*, *утоА*, отсутствие *ystB*), плазмидные гены *yadA/virF* были утрачены у ~60% из-за потери pYV. Напротив, штаммы от диких животных (кабанов) показали гораздо более разнообразные сочетания генов [50].

HRMA. Bancerz-Kisiel et al. предложили метод анализа плавления с высоким разрешением (HRMA), поддерживающий быстрое определение всех SNP, коррелирующих с биотипами тестируемых штаммов *Y. enterocolitica*. По мнению этих их авторов, HRMA поддерживал надежную дискриминацию трех генотипов и филогенетических групп: 1A – непатогенные штаммы *Y. enterocolitica*, 1B – высокопатогенные штаммы *Y. enterocolitica* и 2/4 – слабопатогенные штаммы *Y. enterocolitica*. Этот метод может стать альтернативой стандартному биотипированию, серотипированию штаммов *Y. enterocolitica* [51].

WGS. Методы типирования, основанные на секвенировании полного генома (WGS), демонстрируют высокую разрешающую способность для дифференциации близкородственных штаммов и предоставляют ценную информацию для эпиднадзора, выявления источника и расследования вспышек, тем самым заменяя традиционные методы типирования [6]. WGS может дать ценные знания о генах вирулентности и дополнительную информацию о наличии генов устойчивости к антимикробным препаратам, а также о генетическом разнообразии изолятов, необходимые для понимания патогенных свойств *Y. enterocolitica* [26]. Анализ штаммов *Y. enterocolitica* с использованием WGS показал точную идентификаию условно-патогенного 1A, патогенных 2–5 и высокопатогенного 1B биотипов [37]. WGS также может быть использован для анализа пищевых продуктов и расследования вспышек. Например, Stevens et al. провели исследование с применением WGS и продемонстрировали, что пищевые продукты в Швейцарии являются значимым резервуаром патогенных и потенциально патогенных штаммов *Y. enterocolitica*. Наибольшее генетическое разнообразие показали штаммы условно-патогенного биотипа 1A (45 ST-типов). Обнаружение клональных изолятов в продуктах и у пациентов прямо указало на пищевой путь передачи инфекции. Кроме того, данные исследования подтвердили активный обмен генами вирулентности. Обнаружение идентичных плазмид у генетически разных штаммов явилось прямым доказательством активного горизонтального генетического обмена между изолятами [52]. В последние годы стоимость WGS снизилась, что позволяет использовать его для наблюдения за здоровьем населения и расследования вспышек [6, 37]. Существует два основных аналитических подхода к анализу данных WGS и пониманию генетических связей между исследуемыми изолятами – анализ полиморфизма отдельных нуклеотидов (SNP) и MLST (включает анализ cgMLST). Использование данных WGS и этих аналитических подходов позволило ученым установить филогенетическую и популяционную структуру рода *Yersinia* [28].

SNP (Single Nucleotide Polymorphism). Анализ полиморфизма единичных нуклеотидов представляет собой подход к изучению генетической вариабельности микроорганизмов, при котором исследуются точечные мутации в высокополиморфных локусах, что отличает его от MLST, где анализиру-

ются более консервативные участки генов [53]. Основными методиками SNP-типирования являются каноническое SNP-типирование (CanSNP) и полногеномное SNP-типирование (wgSNP). CanSNP использует ограниченное количество маркеров SNP, что позволяет эффективно классифицировать штаммы на основе ключевых генетических изменений. Данный метод широко применяется в эпидемиологических исследованиях, где важно быстро и точно определить родственные связи между штаммами. Подход wgSNP включает в себя анализ всех SNP в геноме, что позволяет получить более детальную информацию о генетической изменчивости штаммов и их эволюционных путях. Это идеальный выбор для глубоких филогенетических исследований [54, 55]. Анализ SNP представляется наиболее удобным для оценки эволюции штаммов и к тому же позволяет проводить полногеномное сравнение.

MLST (Multilocus sequence typing) – типирование на основе мультилокусных последовательностей [56]. MLST – анализ коротких фрагментов генов жизнеобеспечения, типирование по заранее подобранному набору SNP. Генотипирование на основе MLST активно используется для внутривидового типирования *Y. enterocolitica* в мировой практике, но имеет ограниченные данные по России. Результаты MLST-типирования *Yersinia* spp. представлены в интернет-ресурсах в виде различных баз данных, например www.mlst.net, www.pubmlst.org. На портале EnteroBase представлены следующие схемы типирования иерсиний: McNally 7 Gene, Achtman 7 Gene, cgMLSTV1 + HierCCV1, rMLST, wgMLST (http://enterobase.waraick.ac.uk/species/index/yersinia). Схема McNally представляет собой молекулярный анализ, оценивающий вариации последовательности ДНК (т.е. аллельный тип) 7 консервативных генов домашнего хозяйства. Усовершенствование полногеномного секвенирования позволило расширить схему McNally и включить типирование по основным «коровым» генам – *cgMLST* (по 1553 локусам основного генома), что обеспечивает значительное повышение разрешения и филогенетической точности. Данный метод позволяет анализировать исследуемый штамм путем его сопоставления с предопределенными референсными последовательностями известных ST-типов. Геномные сборки, прошедшие контроль качества, типируются с последующим уникальным многоуровневым иерархическим кластерным подходом. Кластерам присваивается стабильный номер группы кластера при различных фиксированных расстояниях между аллелями cgMLST [6, 57, 58]. Схема cgMLST показывает очень хорошую эффективность при типировании *Y. enterocolitica* и позволяет выявить кластеры вспышек [36]. Во многих странах мира, таких как Франция, США, геномный надзор, основанный на схеме мультилокусного типирования основного генома *Y. enterocolitica* (cgMLST), оказался полезным инструментом для эпидемиологических расследований совместно с органами здравоохранения [41, 59]. Так, Duan et al. с помощью MLST-анализа 7 генов «домашнего хозяйства» изучили популяционную структуру 3 патогенных видов иерсиний (*Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*). Штаммы *Y. enterocolitica* (201 изолят) кластеризовались в 2 большие группы – патогенную и непатогенную. Патогенные штаммы (n = 130) были представлены 17 ST-типами, а непатогенные (n = 71) содержали 46 ST-типов. Соотношение количества ST-типов к общему количеству штаммов показало, что Y. enterocolitica является наиболее разнообразным видом из трех представленных и имеет пропорционально больше ST-типов, чем остальные виды иерсиний. Однако группа патогенных штаммов оказалась консервативной. Также был обнаружен общий 187 ST-тип, характерный для патогенных и непатогенных штаммов [22]. В российских исследованиях MLST активно используется для типирования *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis*, в т.ч. с анализом отечественных коллекций штаммов и сопоставлением с альтернативными подходами типирования [44, 60]. Однако для *Y. enterocolitica* именно российские оригинальные исследования, где MLST применен к отечественным изолятам, не проводились. Переход от MLST к анализу «корового» генома (cgMLST) обеспечит стандартизированную систему типирования, которая позволит проводить субтипирование с более высокой степенью детализации. Это улучшит сопоставимость данных в разных современных масштабах, что имеет основополагающее значение для обнаружения и расследования как национальных, так и трансграничных вспышек, а также для улучшения надзора за этим патогеном. К недостаткам данных современных методов, таких как cgMLST или wgMLST, можно отнести высокую стоимость и необходимость иметь дорогостоящее оборудование и обученный персонал. Следует учитывать, что данные методы являются менее трудоемкими и более дискриминационными, чем PFGE или MLVA [50].

Заключение

Генотипирование иерсиний играет ключевую роль в понимании патогенности и эволюции данного микроорганизма. Современные молекулярные методы позволяют не только идентифицировать штаммы, но и отслеживать их распространение, выявлять источники инфекции и оценивать риски вспышек. Современное генотипирование *Y. enterocolitica* переходит от традиционных методов (PFGE, MLVA) к комплексному анализу на основе WGS. Это позволяет не только точно идентифицировать штаммы, но и составлять эпидемиологические прогнозы. Интеграция геномных данных в системы надзора станет ключевым элементом борьбы с инфекциями, вызванными иерсиниями. Для молекулярного типирования *Y. enterocolitica* в целях эпидемиологического надзора и филогенетического анализа применяется ряд методов, выбор которых детерминирован конкретными исследовательскими задачами. Метод MLVA демонстрирует высокую дискриминационную способность в отношении *Y. enterocolitica* по сравнению с более ранними схемами типирования, что обуславливает его эффективность для расследования вспышек, мониторинга спорадических случаев инфекции и эпидемиологического надзора. Метод MLST применяется для филогенетического анализа и установления кластерного сходства в пределах вида. Наиболее информативным подходом является полногеномное секвенирование (WGS), которое предоставляет исчерпывающие данные для исследования генетических детерминант вирулентности. Современные методы секвенирования, включая MLST и WGS, существенно расширили понимание патогенеза, экологии и эволюции *Y. enterocolitica*. Снижение стоимости WGS в будущем позволит сделать данный метод стандарт-

ным инструментом для масштабного анализа штаммов данного вида с различным географическим происхождением и вирулентностью [36].

Источники финансирования

Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования и подготовке публикации.

Funding

No funding was received for conducting this study and preparing the manuscript for publication.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

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 this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

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.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Savin C, Criscuolo A, Guglielmini J, Le Guern AS, Carniel E, Pizarro-Cerdá J, et al. Genus-wide *Yersinia* core-genome multilocus sequence typing for species identification and strain characterization. Microb Genom. 2019 Oct;5(10):e000301. DOI: 10.1099/mgen.0.000301
2. Yue Y, Zheng J, Sheng M, Liu X, Hao Q, Zhang S, et al. Public health implications of *Yersinia enterocolitica* investigation: an ecological modeling and molecular epidemiology study. Infect Dis Poverty. 2023 Apr 21;12(1):41. DOI: 10.1186/s40249-023-01063-6
3. Grygiel-Górniak B. Current Challenges in Yersinia Diagnosis and Treatment. Microorganisms. 2025 May 15;13(5):1133. DOI: 10.3390/microorganisms13051133
4. European Centre for Disease Prevention and Control. Yersiniosis / In: European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Annual Epidemiological Report for 2022. Stockholm: ECDC, 2024.
5. Tack DM, Ray L, Griffin PM, Cieslak PR, Dunn J, Rissman T, et al. Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens Transmitted Commonly Through Food – Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2016–2019. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2020 May 1;69(17):509-514. DOI: 10.15585/mmwr.mm6917a1
6. Strydom H, Wang J, Paine S, Dyet K, Cullen K, Wright J. Evaluating sub-typing methods for pathogenic *Yersinia enterocolitica* to support outbreak investigations in New Zealand. Epidemiol Infect. 2019 Jan;147:e186. DOI:10.1017/S0950268819000773
7. Guillier L, Fravalo P, Leclercq A, Thébault A, Kooh P, Cadavez V, et al. Risk factors for sporadic *Yersinia enterocolitica* infections: a systematic review and meta-analysis. Microbial Risk Analysis. 2021;17:100141. DOI: 10.1016/j.mran.2020.100141
8. Кокорина ГИ, Сайнес ТВ, Богумильчик ЕА, Воскресенская ЕА. Актуальные вопросы диагностики иерсиниозов. Проблемы медицинской микологии. 2024;26(2):142.
9. Чеснокова МВ, Климов ВТ, Никитин АЯ. Прогноз заболеваемости псевдотуберкулезом и кишечным иерсиниозом на долгосрочную перспективу. Инфекция и иммунитет. 2017;S:175.
10. Кокорина ГИ, Сайнес ТВ, Богумильчик ЕА, Воскресенская ЕА. Особенности эпидемического процесса и лабораторной диагностики иерсиниозов в Российской Федерации в 2016–2018 гг. Проблемы медицинской микологии. 2022;24(2):86.
11. Дороженкова ТЕ, Горбич ОА. Эпидемиологическая характеристика и основы профилактики кишечного иерсиниоза и псевдотуберкулеза. Учеб.-метод. пособие. 2022;47.
12. Панин АЛ, Краева ЛА, Сбойчаков ВБ, Белов АБ, Болехан ВН, Власов ДЮ, и др. Микробиологический мониторинг иерсиний как основа санитарно-эпидемиологического надзора за иерсиниозами в организованных. Инфекция и иммунитет. 2013;3(3):217-228.
13. Куликалова ЕС, Балахонов СВ, Косилко СА, Чеснокова МВ, Бренева НВ, Климов ВТ, и др. Особенности эпидемических и эпизоотоотических проявлений опасных зоонозных инфекций бактериальной этиологии в Сибири и на Дальнем Востоке (2014–2018 гг.). Дальневосточный журнал инфекционной патологии. 2020;39:99-105.
14. Le Guern AS, Martin L, Savin C, Carniel E. Yersiniosis in France: overview and potential sources of infection. Int J Infect Dis. 2016 May;46:1-7. DOI: 10.1016/j.ijid.2016.03.008
15. Garzetti D, Susen R, Fruth A, Tietze E, Heesemann J, Rakin A. A molecular scheme for *Yersinia enterocolitica* patho-serotyping derived from genome-wide analysis. Int J Med Microbiol. 2014 May;304(3-4):275-83. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.10.007
16. Чеснокова МВ, Климов ВТ, Каримова ТВ, Загоскина ТЮ, Панин АЛ. Лабораторная диагностика псевдотуберкулеза и кишечного иерсиниоза. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2021;26(5):224-237. DOI: 10.17816/EID108746
17. Fredriksson-Ahomaa M. *Yersinia enterocolitica*. In: Foodborne diseases, 3rd ed. London: Elsevier, Academic Press; 2017;223-33. DOI: 10.1016/B978-0-12-385007-2.00009-7
18. Bottone EJ. *Yersinia enterocolitica*: Revisitation of an Enduring Human Pathogen. Clin Microbiol Newsl. 2015;37:1-8. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2014.12.003
19. European Food Safety Authority (EFSA); European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. EFSA J. 2023 Dec 12;21(12):e8442. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8442
20. Pires J, Brandal LT, Naseer U. Development and implementation of a core genome multilocus sequence typing scheme for *Yersinia enterocolitica*: a tool for surveillance and outbreak detection. J Clin Microbiol. 2024 Aug 14;62(8):e0004024. DOI: 10.1128/jcm.00040-24

21. Bancerz-Kisiel A, Pieczywek M, Łada P, Szweda W. The Most Important Virulence Markers of *Yersinia enterocolitica* and Their Role during Infection. Genes (Basel). 2018 May 3;9(5):235. DOI: 10.3390/genes9050235
22. Duan R, Liang J, Shi G, Cui Z, Hai R, Wang P, et al. Homology analysis of pathogenic *Yersinia species*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* based on multilocus sequence typing. J Clin Microbiol. 2014 Jan;52(1):20-9. DOI: 10.1128/JCM.02185-13
23. Bonardi S, Le Guern AS, Savin C, Pupillo G, Bolzoni L, Cavalca M, et al. Detection, virulence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* in bulk tank milk in Italy. International Dairy Journal. 2018;84:46-53. DOI: 10.1016/j.idairyj.2018.04.003
24. Imori PF, Passaglia J, Souza RA, Rocha LB, Falcão JP. Virulence-related genes, adhesion and invasion of some *Yersinia enterocolitica*-like strains suggests its pathogenic potential. Microb Pathog. 2017 Mar;104:72-77. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.01.008
25. Batzilla J, Heesemann J, Rakin A. The pathogenic potential of *Yersinia enterocolitica* 1A. Int J Med Microbiol. 2011 Nov;301(7):556-61. DOI: 10.1016/j.ijmm.2011.05.002
26. Stevens MJA, Horlbog JA, Diethelm A, Stephan R, Nüesch-Inderbinen M. Characteristics and comparative genome analysis of *Yersinia enterocolitica* and related species associated with human infections in Switzerland 2019–2023. Infect Genet Evol. 2024 Sep;123:105652. DOI: 10.1016/j.meegid.2024.105652
27. Бардаков РА. Молекулярно-генетический мониторинг *Yersinia enterocolitica* и *Yersinia pseudotuberculosis*. Известия Российской военно-медицинской академии. 2019;38(S1-1):39-43.
28. Rivas L, Horn B, Armstrong B, Wright J, Strydom H, Wang J, et al. A case-control study and molecular epidemiology of yersiniosis in Aotearoa New Zealand. J Clin Microbiol. 2024 Oct 16;62(10):e0075424. DOI: 10.1128/jcm.00754-24
29. Wołkowicz T, Zacharczuk K, Rokosz-Chudziak N, Rastawicki W, Gierczyński R. Characterisation of Yersinia Secretion Apparatus – Pathogenicity Island (Ysa-PI) of *Yersinia enterocolitica* 1B/O8 in Poland: an Idle Ysa is a Specific Hallmark of the Epidemic Sensu Stricto Strain. Pol J Microbiol. 2015;64(2):171-4.
30. Ventola E, Lovari S, Farneti S, Finazzi G, Bilei S, Owczarek S, et al. Molecular characterization of *Yersinia enterocolitica* strains to evaluate virulence associated genes. Ann Ist Super Sanita. 2023 Oct-Dec;59(4):280-285. DOI: 10.4415/ANN_23_04_07
31. Platt-Samoraj A. Toxigenic properties of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A. Toxins (Basel). 2022;14:118. DOI: 10.3390/toxins14020118
32. Shoaib M, Shehzad A, Raza H, Niazi S, Khan IM, Akhtar W, et al. A comprehensive review on the prevalence, pathogenesis and detection of *Yersinia enterocolitica*. RSC Adv. 2019 Dec 11;9(70):41010-41021. DOI: 10.1039/c9ra06988g
33. Ценева ГЯ, Солодовникова НЮ, Воскресенская ЕА. Молекулярные аспекты вирулентности иерсиний. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2002;4(3):248-266.
34. Joutsen S, Laukkanen-Ninios R, Henttonen H, Niemimaa J, Voutilainen L, Kallio ER, et al. *Yersinia* spp. in Wild Rodents and Shrews in Finland. Vector Borne Zoonotic Dis. 2017 May;17(5):303-311. DOI: 10.1089/vbz.2016.2025
35. Бондарева ОС, Савченко СС, Ткаченко ГА, Абуева АИ, Муратова ЮО, Антонов ВА. Современные подходы к генотипированию возбудителей особо опасных инфекций. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2014;19(1):34-44. DOI: 10.17816/EID40787
36. Petsios S, Fredriksson-Ahomaa M, Sakkas H, Papadopoulou C. Conventional and molecular methods used in the detection and subtyping of *Yersinia enterocolitica* in food. Int J Food Microbiol. 2016 Nov 21;237:55-72. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.015
37. Terentjeva M, Ķibilds J, Gradovska S, Alksne L, Streikiša M, Meistere I, et al. Prevalence, virulence determinants, and genetic diversity in *Yersinia enterocolitica* isolated from slaughtered pigs and pig carcasses. Int J Food Microbiol. 2022 Sep 2;376:109756. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109756
38. Горюнова ПА, Ерошенко ГА, Балыкова АН, Коврижников АВ, Шевченко КС, Куклева ЛМ, и др. MLVA25- и CRISPR-генотипы штаммов *Yersinia pestis* из Прикаспийского песчаного очага чумы. Проблемы особо опасных инфекций. 2023;4:68-76. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-68-76
39. Евсеева ВВ, Платонов МЕ, Дентовская СВ, Анисимов АП. Типирование *Yersinia pseudotuberculosis* с помощью мультилокусного анализа вариабельного числа тандемных повторов. Проблемы особо опасных инфекций. 2015;4:55-57. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-55-57
40. Alakurtti S, Keto-Timonen R, Virtanen S, Martínez PO, Laukkanen-Ninios R, Korkeala H. Large Diversity of Porcine *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in Eight European Countries Assessed by Multiple-Locus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis. Foodborne Pathog Dis. 2016 Jun;13(6):289-95. DOI: 10.1089/fpd.2015.2095
41. Savin C, Oropeza G, Barboza Fallas LA, Rivas-Solano O, Chanto G, Pizarro-Cerdá J. Genomic Characterization of *Yersinia enterocolitica* Isolates, Costa Rica. Emerg Infect Dis. 2025 Apr;31(4):848-860. DOI: 10.3201/eid3104.240963
42. Водопьянов АС, Водопьянов СО, Олейников ИП, Мишанькин БН. INDEL-типирование штаммов *Vibrio cholerae*. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2017;22(4):195-200. DOI: 10.17816/EID40978
43. Трухачев АЛ, Мелоян МГ, Воскресенская ЕА, Водопьянов АС, Водопьянов СО, Подладчикова ОН, и др. INDEL-типирование штаммов *Yersinia pseudotuberculosis*. Проблемы особо опасных инфекций. 2022;4:102-9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109
44. Kutyrev VV, Eroshenko GA, Motin VL, Nosov NY, Krasnov JM, Kukleva LM, et al. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. Front. Microbiol. 2018;9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106
45. Патент №2816184 Российская Федерация, МПК C12Q 1/68 (2006.01), C12N 15/10 (2006.01). Способ дифференциации штаммов *Pseudomonas aeruginosa* с помощью молекулярно-генетического типирования: №2023113736: заявл. 24.05.2023: опубл. 26.03.2024. Ковалевич АА, Водопьянов СО, Водопьянов АС; заявитель ФКУЗ «Ростовский-на-Дону ордена трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора. 2 с.: ил.
46. Водопьянов АС, Водопьянов СО, Олейников ИП, Мишанькин БН, Кругликов ВД, Архангельская ИВ, и др. INDEL- и VNTR-типирование штаммов *Vibrio cholerae*, выделенных в 2013 году из объектов окружающей среды на территории Российской Федерации. Здоровье населения и среда обитания – ЗНиСО. 2015;5(266):41-44.
47. Bui TH, Ikeuchi S, O'Brien YS, Niwa T, Hara-Kudo Y, Taniguchi T, et al. Multiplex PCR method for differentiating highly pathogenic *Yersinia enterocolitica* and low pathogenic *Yersinia enterocolitica*, and *Yersinia pseudotuberculosis*. J Vet Med Sci. 2021 Dec 23;83(12):1982-1987. DOI: 10.1292/jvms.21-0358
48. Clarke M, Dabke G, Strakova L, Jenkins C, Saavedra-Campos M, McManus O, et al. Introduction of PCR testing reveals a previously unrecognized burden of yersiniosis in Hampshire, UK. J Med Microbiol. 2020 Mar;69(3):419-426. DOI: 10.1099/jmm.0.001125
49. Wang J, Liu M, Wang H, Wu Q, Ding Y, Xu T, et al. Occurrence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of *Yersinia enterocolitica* isolated from retail food samples in China. 2021. LWT 150:111876. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111876
50. Morka K, Wałecka-Zacharska E, Schubert J, Dudek B, Woźniak-Biel A, Kuczkowski M, et al. Genetic Diversity and Distribution of Virulence-Associated Genes in *Y. enterocolitica* and *Y. enterocolitica*-Like Isolates from Humans and Animals in Poland. Pathogens. 2021 Jan 13;10(1):65. DOI: 10.3390/pathogens10010065
51. Bancerz-Kisiel A, Szczerba-Turek A, Platt-Samoraj A, Michalczyk M, Szweda W. Characterisation of ail-positive *Yersinia enterocolitica* of different biotypes using HRMA. Int J Food Microbiol. 2018 Mar 23;269:46-51. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.016

52. Stevens MJA, Barmettler K, Kelbert L, Stephan R, Nüesch-Inderbinen M. Genome based characterization of *Yersinia enterocolitica* from different food matrices in Switzerland in 2024. Infect Genet Evol. 2025 Mar;128:105719. DOI: 10.1016/j.meegid.2025.105719
53. Светоч ТЭ, Дентовская СВ, Светоч ЭА. Молекулярное типирование штаммов *Shigella*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2017;35(1):7-11. DOI 10.18821/0208-0613-2017-35-1-7-11
54. Nascimento-Schulze JC, Bean TP, Peñaloza C, Paris JR, Whiting JR, Simon A, et al. SNP discovery and genetic structure in blue mussel species using low coverage sequencing and a medium density 60K SNP-array. Evol Appl. 2023 Apr 25;16(5):1044-1060. DOI: 10.1111/eva.13552
55. Vogler AJ, Birdsell D, Price LB, Bowers JR, Beckstrom-Sternberg SM, Auerbach RK, et al. Phylogeography of *Francisella tularensis*: global expansion of a highly fit clone. J Bacteriol. 2009 Apr;191(8):2474-84. DOI: 10.1128/JB.01786-08
56. Темякова СЮ, Писанов РВ, Ступникова ЕВ. Патогенетический потенциал *Vibrio vulnificus* как возбудителя септических инфекций. Бактериология. 2023;8(2):72-78. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-2-72-78
57. Dyer NP, Päuker B, Baxter L, Gupta A, Bunk B, Overmann J, et al. EnteroBase in 2025: exploring the genomic epidemiology of bacterial pathogens. Nucleic Acids Res. 2025 Jan 6;53(D1):D757-D762. DOI: 10.1093/nar/gkae902
58. Zhou Z, Alikhan NF, Mohamed K, Fan Y; Agama Study Group; Achtman M. The EnteroBase user's guide, with case studies on *Salmonella transmissions*, *Yersinia pestis* phylogeny, and *Escherichia* core genomic diversity. Genome Res. 2020 Jan;30(1):138-152. DOI: 10.1101/gr.251678.119
59. Le Guern A-S, Savin C, Chereau F, Tessier S, Guglielmini J, Brémont S, et al. A novel cgMLST for genomic surveillance of *Yersinia enterocolitica* infections in France allowed the detection and investigation of outbreaks in 2017–2021. Microbiol Spectr. 2024 Jun 4;12(6):e0050424. DOI: 10.1128/spectrum.00504-24
60. 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

References

1. Savin C, Criscuolo A, Guglielmini J, Le Guern AS, Carniel E, Pizarro-Cerdá J, et al. Genus-wide *Yersinia core*-genome multilocus sequence typing for species identification and strain characterization. Microb Genom. 2019 Oct;5(10):e000301. DOI: 10.1099/mgen.0.000301
2. Yue Y, Zheng J, Sheng M, Liu X, Hao Q, Zhang S, et al. Public health implications of *Yersinia enterocolitica* investigation: an ecological modeling and molecular epidemiology study. Infect Dis Poverty. 2023 Apr 21;12(1):41. DOI: 10.1186/s40249-023-01063-6
3. Grygiel-Górniak B. Current Challenges in Yersinia Diagnosis and Treatment. Microorganisms. 2025 May 15;13(5):1133. DOI: 10.3390/microorganisms13051133
4. European Centre for Disease Prevention and Control. Yersiniosis / In: European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Annual Epidemiological Report for 2022. Stockholm: ECDC, 2024.
5. Tack DM, Ray L, Griffin PM, Cieslak PR, Dunn J, Rissman T, et al. Preliminary Incidence and Trends of Infections with Pathogens Transmitted Commonly Through Food – Foodborne Diseases Active Surveillance Network, 10 U.S. Sites, 2016–2019. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2020 May 1;69(17):509-514. DOI: 10.15585/mmwr.mm6917a1
6. Strydom H, Wang J, Paine S, Dyet K, Cullen K, Wright J. Evaluating sub-typing methods for pathogenic *Yersinia enterocolitica* to support outbreak investigations in New Zealand. Epidemiol Infect. 2019 Jan;147:e186. DOI:10.1017/S0950268819000773
7. Guillier L, Fravalo P, Leclercq A, Thébault A, Kooh P, Cadavez V, et al. Risk factors for sporadic *Yersinia enterocolitica* infections: a systematic review and meta-analysis. Microbial Risk Analysis. 2021;17:100141. DOI: 10.1016/j.mran.2020.100141
8. Kokorina GI, Saines TV, Bogumichik EA, Voskresenskaya EA. Current issues in the diagnostics of yersinioses. Problems in Medical Mycology. 2024;26(2):142. (In Russian).
9. Chesnokova MV, Klimov VT, Nikitin AYa. Long-term forecast of morbidity for pseudotuberculosis and intestinal yersiniosis. Infection and Immunity. 2017;S:175. (In Russian).
10. Kokorina GI, Saines TV, Bogumilchik EA, Voskresenskaya EA. Features of the epidemic process and laboratory diagnosis of yersinioses in the Russian Federation in 2016–2018. Problems in Medical Mycology. 2022;24(2):86. (In Russian).
11. Dorozhenkova TE, Gorbich OA. Epidemiological characteristics and fundamentals of prevention of intestinal yersiniosis and pseudotuberculosis. Educational-methodical manual. 2022;47. (In Russian).
12. Panin AL, Kraeva LA, Sboychakov VB, Belov AB, Bolekhan VN, Vlasov DYu, et al. Microbiological monitoring of yersinia as the basis of sanitary and epidemiological survellance of yersiniosis in organized groups. Infection and Immunity. 2013;3(3):217-228. (In Russian).
13. Kulikalova SV, Balakhonov SA, Kosilko MV, Chesnokova NV, Breneva VT, Klimov VT, et al. Modern features of epidemic and epizootic manifestations of dangerous natural-focal zoanthroponotic infections of bacterial etiology in Siberia and in the Far East. Far Eastern Journal of Infectious Pathology. 2020;39:99-105. (In Russian).
14. Le Guern AS, Martin L, Savin C, Carniel E. Yersiniosis in France: overview and potential sources of infection. Int J Infect Dis. 2016 May;46:1-7. DOI: 10.1016/j.ijid.2016.03.008
15. Garzetti D, Susen R, Fruth A, Tietze E, Heesemann J, Rakin A. A molecular scheme for *Yersinia enterocolitica* patho-serotyping derived from genome-wide analysis. Int J Med Microbiol. 2014 May;304(3-4):275-83. DOI: 10.1016/j.ijmm.2013.10.007
16. Chesnokova MV, Klimov VT, Karimova TV, Zagoskina TYu, Panin AL. Laboratory diagnosis of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Yersinia enterocolitica*. Epidemiology and Infectious Diseases. 2021;26(5):224-237. DOI: 10.17816/EID108746 (In Russian).
17. Fredriksson-Ahomaa M. *Yersinia enterocolitica*. In: Foodborne diseases, 3rd ed. London: Elsevier, Academic Press; 2017;223-33. DOI: 10.1016/B978-0-12-385007-2.00009-7
18. Bottone EJ. *Yersinia enterocolitica*: Revisitation of an Enduring Human Pathogen. Clin. Microbiol. Newsl. 2015;37:1-8. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2014.12.003
19. European Food Safety Authority (EFSA); European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). The European Union One Health 2022 Zoonoses Report. EFSA J. 2023 Dec 12;21(12):e8442. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8442
20. Pires J, Brandal LT, Naseer U. Development and implementation of a core genome multilocus sequence typing scheme for *Yersinia enterocolitica*: a tool for surveillance and outbreak detection. J Clin Microbiol. 2024 Aug 14;62(8):e0004024. DOI: 10.1128/jcm.00040-24
21. Bancerz-Kisiel A, Pieczywek M, Łada P, Szweda W. The Most Important Virulence Markers of *Yersinia enterocolitica* and Their Role during Infection. Genes (Basel). 2018 May 3;9(5):235. DOI: 10.3390/genes9050235
22. Duan R, Liang J, Shi G, Cui Z, Hai R, Wang P, et al. Homology analysis of pathogenic *Yersinia* species *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, and *Yersinia pestis* based on multilocus sequence typing. J Clin Microbiol. 2014 Jan;52(1):20-9. DOI: 10.1128/JCM.02185-13
23. Bonardi S, Le Guern AS, Savin C, Pupillo G, Bolzoni L, Cavalca M, et al. Detection, virulence and antimicrobial resistance of *Yersinia enterocolitica* in bulk tank milk in Italy. International Dairy Journal. 2018;84:46-53. DOI: 10.1016/j.idairyj.2018.04.003
24. Imori PF, Passaglia J, Souza RA, Rocha LB, Falcão JP. Virulence-related genes, adhesion and invasion of some *Yersinia enterocolitica*-like strains suggests its

pathogenic potential. Microb Pathog. 2017 Mar;104:72-77. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.01.008

25. Batzilla J, Heesemann J, Rakin A. The pathogenic potential of *Yersinia enterocolitica* 1A. Int J Med Microbiol. 2011 Nov;301(7):556-61. DOI: 10.1016/j.ijmm.2011.05.002
26. Stevens MJA, Horlbog JA, Diethelm A, Stephan R, Nüesch-Inderbinen M. Characteristics and comparative genome analysis of *Yersinia enterocolitica* and related species associated with human infections in Switzerland 2019–2023. Infect Genet Evol. 2024 Sep;123:105652. DOI: 10.1016/j.meegid.2024.105652
27. Bardakov RA. Molecular-genetic monitoring *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. News of the Russian Military Medical Academy. 2019;38(S1-1):39-43. (In Russian).
28. Rivas L, Horn B, Armstrong B, Wright J, Strydom H, Wang J, et al. A case-control study and molecular epidemiology of yersiniosis in Aotearoa New Zealand. J Clin Microbiol. 2024 Oct 16;62(10):e0075424. DOI: 10.1128/jcm.00754-24
29. Wołkowicz T, Zacharczuk K, Rokosz-Chudziak N, Rastawicki W, Gierczyński R. Characterisation of *Yersinia* Secretion Apparatus – Pathogenicity Island (Ysa-PI) of *Yersinia enterocolitica* 1B/O8 in Poland: an Idle Ysa is a Specific Hallmark of the Epidemic Sensu Stricto Strain. Pol J Microbiol. 2015;64(2):171-4.
30. Ventola E, Lovari S, Farneti S, Finazzi G, Bilei S, Owczarek S, et al. Molecular characterization of *Yersinia enterocolitica* strains to evaluate virulence associated genes. Ann Ist Super Sanita. 2023 Oct-Dec;59(4):280-285. DOI: 10.4415/ANN_23_04_07
31. Platt-Samoraj A. Toxigenic properties of *Yersinia enterocolitica* biotype 1A. Toxins (Basel). 2022;14:118. DOI: 10.3390/toxins14020118
32. Shoaib M, Shehzad A, Raza H, Niazi S, Khan IM, Akhtar W, et al. A comprehensive review on the prevalence, pathogenesis and detection of *Yersinia enterocolitica*. RSC Adv. 2019 Dec 11;9(70):41010-41021. DOI: 10.1039/c9ra06988g
33. Tseneva GYa, Solodovnikova NYu, Voskresenskaya EA. Molecular aspects of *Yersinia virulence*. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2002;4(3):248-266. (In Russian).
34. Joutsen S, Laukkanen-Ninios R, Henttonen H, Niemimaa J, Voutilainen L, Kallio ER, et al. *Yersinia* spp. in Wild Rodents and Shrews in Finland. Vector Borne Zoonotic Dis. 2017 May;17(5):303-311. DOI: 10.1089/vbz.2016.2025
35. Bondareva OS, Savchenko SS, Tkachenko GA, Abueva AI, Muratova YuO, Antonov VA. Modern approaches to genotyping of causative agents of particularly dangerous infections. Epidemiology and Infectious Diseases. 2014;19(1):34-44. DOI: 10.17816/EID40787 (In Russian).
36. Petsios S, Fredriksson-Ahomaa M, Sakkas H, Papadopoulou C. Conventional and molecular methods used in the detection and subtyping of *Yersinia enterocolitica* in food. Int J Food Microbiol. 2016 Nov 21;237:55-72. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.015
37. Terentjeva M, Ķibilds J, Gradovska S, Alksne L, Streikiša M, Meistere I, et al. Prevalence, virulence determinants, and genetic diversity in *Yersinia enterocolitica* isolated from slaughtered pigs and pig carcasses. Int J Food Microbiol. 2022 Sep 2;376:109756. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2022.109756
38. Goryunova PA, Eroshenko GA, Balykova AN, Kovrizhnikov AV, Shevchenko KS, Kukleva LM, et al. MLVA25 and CRISPR Genotypes of *Yersinia pestis* Strains from the Caspian Sandy Plague Focus. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2023;4:68-76. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-68-76 (In Russian).
39. Evseeva VV, Platonov ME, Dentovskaya SV, Anisimov AP. *Yersinia pseudotuberculosis* typing using multi-locus variable-number tandem repeat analysis. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2015;4:55-57. DOI: 10.21055/0370-1069-2015-4-55-57 (In Russian).
40. Alakurtti S, Keto-Timonen R, Virtanen S, Martínez PO, Laukkanen-Ninios R, Korkeala H. Large Diversity of Porcine *Yersinia enterocolitica* 4/O:3 in Eight European Countries Assessed by Multiple-Locus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis. Foodborne Pathog Dis. 2016 Jun;13(6):289-95. DOI: 10.1089/fpd.2015.2095
41. Savin C, Oropeza G, Barboza Fallas LA, Rivas-Solano O, Chanto G, Pizarro-Cerdá J. Genomic Characterization of *Yersinia enterocolitica* Isolates, Costa Rica. Emerg Infect Dis. 2025 Apr;31(4):848-860. DOI: 10.3201/eid3104.240963
42. Vodop'yanov AS, Vodop'yanov SO, Oleynikov IP, Mishan'kin BN. INDEL-genotyping of *Vibrio cholerae* strains. Epidemiology and Infectious Diseases. 2017;22(4):195-200. DOI: 10.17816/EID40978 (In Russian).
43. 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;4:102-9. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-4-102-109 (In Russian).
44. Kutyrev VV, Eroshenko GA, Motin VL, Nosov NY, Krasnov JM, Kukleva LM, et al. Phylogeny and classification of *Yersinia pestis* through the lens of strains from the plague foci of Commonwealth of Independent States. Front. Microbiol. 2018;9:1106. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01106
45. Patent No 2816184 Russian Federation, IPC C12Q 1/68 (2006.01), C12N 15/10 (2006.01). Method for differentiating *Pseudomonas aeruginosa* strains using molecular genetic typing: No 2023113736: declared 24.05.2023: published 26.03.2024. Kovalevich AA, Vodopyanov SO, Vodopyanov AS; applicant Rostov-on-Don Order of the Red Banner of Labor Anti-Plague Research Institute of Rospotrebnadzor. 2 p.: ill. Text: direct. (In Russian).
46. Vodopyanov AS, Vodopyanov SO, Oleynikov IP, Mishan'kin BN, Kruglikov VD, Arkhangelskaya IV, et al. INDEL- and VNTR-typing *Vibrio cholerae* strains, isolated in 2013 from the environment objects in the Russian Federation. Zdor. Naselen. Sreda Obit. 2015;5(266):41-44. (In Russian).
47. Bui TH, Ikeuchi S, O'Brien YS, Niwa T, Hara-Kudo Y, Taniguchi T, et al. Multiplex PCR method for differentiating highly pathogenic *Yersinia enterocolitica* and low pathogenic *Yersinia enterocolitica*, and *Yersinia pseudotuberculosis*. J Vet Med Sci. 2021 Dec 23;83(12):1982-1987. DOI: 10.1292/jvms.21-0358
48. Clarke M, Dabke G, Strakova L, Jenkins C, Saavedra-Campos M, McManus O, et al. Introduction of PCR testing reveals a previously unrecognized burden of yersiniosis in Hampshire, UK. J Med Microbiol. 2020 Mar;69(3):419-426. DOI: 10.1099/jmm.0.001125
49. Wang J, Liu M, Wang H, Wu Q, Ding Y, Xu T, et al. Occurrence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of *Yersinia enterocolitica* isolated from retail food samples in China. 2021. LWT 150:111876. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111876
50. Morka K, Wałecka-Zacharska E, Schubert J, Dudek B, Woźniak-Biel A, Kuczkowski M, et al. Genetic Diversity and Distribution of Virulence-Associated Genes in *Y. enterocolitica* and *Y. enterocolitica*-Like Isolates from Humans and Animals in Poland. Pathogens. 2021 Jan 13;10(1):65. DOI: 10.3390/pathogens10010065
51. Bancerz-Kisiel A, Szczerba-Turek A, Platt-Samoraj A, Michalczyk M, Szweda W. Characterisation of ail-positive *Yersinia enterocolitica* of different biotypes using HRMA. Int J Food Microbiol. 2018 Mar 23;269:46-51. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2018.01.016
52. Stevens MJA, Barmettler K, Kelbert L, Stephan R, Nüesch-Inderbinen M. Genome based characterization of *Yersinia enterocolitica* from different food matrices in Switzerland in 2024. Infect Genet Evol. 2025 Mar;128:105719. DOI: 10.1016/j.meegid.2025.105719
53. Svetoch TE, Dentovskaya SV, Svetoch EA. Molecular typing of *Shigella* strains. Molecular Genetics, Microbiology and Virology. 2017;35(1):7-11. DOI: 10.18821/0208-0613-2017-35-1-7-11 (In Russian).
54. Nascimento-Schulze JC, Bean TP, Peñaloza C, Paris JR, Whiting JR, Simon A, et al. SNP discovery and genetic structure in blue mussel species using low coverage sequencing and a medium density 60 K SNP-array. Evol Appl. 2023 Apr 25;16(5):1044-1060. DOI: 10.1111/eva.13552
55. Vogler AJ, Birdsell D, Price LB, Bowers JR, Beckstrom-Sternberg SM, Auerbach RK, et al. Phylogeography of *Francisella tularensis*: global expansion of a highly fit clone. J Bacteriol. 2009 Apr;191(8):2474-84. DOI: 10.1128/JB.01786-08

56. Temyakova SYu, Pisanov RV, Stupnikova EV. Pathogenetic potential of *Vibrio vulnificus* as a causative agent of septic infections. Bacteriology. 2023;8(2):72-78. DOI: 10.20953/2500-1027-2023-2-72-78 (In Russian).
57. Dyer NP, Päuker B, Baxter L, Gupta A, Bunk B, Overmann J, et al. EnteroBase in 2025: exploring the genomic epidemiology of bacterial pathogens. Nucleic Acids Res. 2025 Jan 6;53(D1):D757-D762. DOI: 10.1093/nar/gkae902
58. Zhou Z, Alikhan NF, Mohamed K, Fan Y; Agama Study Group; Achtman M. The EnteroBase user's guide, with case studies on *Salmonella transmissions*, *Yersinia pestis* phylogeny, and *Escherichia core* genomic diversity. Genome Res. 2020 Jan;30(1):138-152. DOI: 10.1101/gr.251678.119
59. Le Guern A-S, Savin C, Chereau F, Tessier S, Guglielmini J, Brémont S, et al. A novel cgMLST for genomic surveillance of *Yersinia enterocolitica* infections in France allowed the detection and investigation of outbreaks in 2017–2021. Microbiol Spectr. 2024 Jun 4;12(6):e0050424. DOI: 10.1128/spectrum.00504-24
60. 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).

Информация о соавторах:

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

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

Темякова Светлана Юрьевна, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-4472-0264

Ковалевич Алексей Александрович, научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ «Ростовский-на-Дону научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0001-6926-0239

Information about co-authors

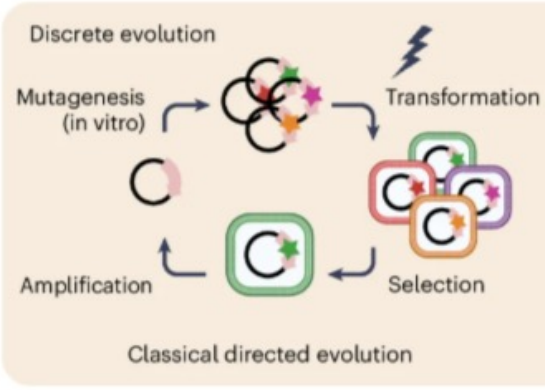
Ruslan V. Pisanov, PhD in Biological Sciences, Leading Researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-7178-8021

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

Svetlana Yu. Temyakova, Researcher, Laboratory of molecular biology of natural focal and zoonotic infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-4472-0264

Alexey A. Kovalevich, Research Scientist, Laboratory of Molecular Biology of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Antiplague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-6926-0239

Скоростное «обучение» подготавливает бактерии к выполнению сложных задач, таких как поедание пластика



Методы направленной эволюции сталкиваются с компромиссами между управлением дискретными подходами и пропускной способностью современных непрерывных систем. Разработан метод, называемый литическим отбором и эволюцией (LySE), для почти непрерывной эволюции бактериальных генных кластеров при сохранении дискретных контрольных точек. Разработан гипермутагенный вариант ДНК-полимеразы T7, сросшийся с двойной аденин-цитозиндеаминазой для установки всех возможных переходных мутаций на схожих частотах. Снижая давление с поддержания верности генома, получены частоты мутаций $3{,}82 \times 10^{-5}$ замен на базу. Для биосодержания ДНК-полимераза T7 кодировалась на вспомогательной плазмиде, а целевой генный кластер – на фагемиде T7 с отсутствующей ДНК-полимеразой T7. Чередующиеся циклы лизиса и трансдукции обеспечивают селективную репликацию и мутагенез целевых генов, в то время как внецелевые геномные мутации отбрасываются. LySE эволюционировала в 25 раз увеличение устойчивости к тигециклину, кодируемой tetA, за 5 циклов и на 50,9% увеличение конечной биомассы бактериального штамма, который использует мономер полиэтилентерефталата этиленгликоль в качестве единственного источника углерода. Этот метод балансирует скорость и контроль для направленной эволюции бактерий.

Ong S, Ghode P, Narenderan A, Lao S, Willenborg F, Eden TV, et al. Bridging continuous and discrete evolution through a controllable, hypermutagenic phage-bacteria system. Nat Microbiol. 2026 Jun;11(6):1585-1597. DOI: 10.1038/s41564-026-02346-y

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 используются 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