

Оценка вибриоциногенной активности ctx^+ и ctx^- штаммов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы в планктонной форме и в составе биопленок

Е.А.Меньшикова, С.В.Титова, С.О.Водопьянов, Н.А.Селянская, Л.А.Егизарян, В.Д.Кругликов

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

На протяжении длительного периода эволюции микроорганизмы выработали множество факторов, позволяющих им выживать в конкурентной борьбе за существование. Многие бактерии синтезируют биологически активные вещества белково-пептидной природы, ингибирующие частично или полностью рост филогенетически близкородственных микроорганизмов и даже таксономически неродственных бактерий. Одним из таких веществ является бактериоцин-вибриоцин, продукция которого обеспечивает холерному вибриону селективное преимущество при смене места обитания: пребывание в инфицированном макроорганизме (в тонком кишечнике) с последующим существованием в природных экосистемах (гидробиоте). В работе использовали штаммы холерных вибрионов, выделенные от человека и из воды, а также штаммы из набора коллекции Фредерика и Чакрабарты. В результате проведенных исследований по изучению вибриоциногенной активности холерных вибрионов установлено, что культуры *Vibrio cholerae* в планктоне и биопленке в условиях, моделирующих весенне-летнюю температуру, независимо от наличия гена *ctx* обладали широким спектром вибриоциногенной активности и подавляли рост штаммов-индикаторов кишечной группы и *V. cholerae*. При температуре $6 \pm 1^\circ\text{C}$ ингибирующая активность исследуемых штаммов снижалась до умеренного и узкого спектра, однако даже в условиях, моделирующих зимний период, холерные вибрионы были способны подавлять рост возбудителей кишечной группы.

Ключевые слова: холерный вибрион, бактериоцин, вибриоцин, биопленка, планктон, спектр вибриоциногенной активности

Для цитирования: Меньшикова Е.А., Титова С.В., Водопьянов С.О., Селянская Н.А., Егизарян Л.А., Кругликов В.Д. Оценка вибриоциногенной активности ctx^+ и ctx^- штаммов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы в планктонной форме и в составе биопленок. Бактериология. 2025; 10(2): 28–32. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-2-28-32

Assessment of vibriocinogenic activity of ctx^+ and ctx^- strains of *Vibrio cholerae* O1 serogroup in planktonic form and in biofilm composition

E.A.Menshikova, S.V.Titova, S.O.Vodopyanov, N.A.Selyanskaya, L.A.Egizaryan, V.D.Kruglikov

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

Over a long evolutionary period, microorganisms have developed numerous factors that enable them to survive in the competitive struggle for existence. Many bacteria synthesize biologically active substances of protein-peptide nature that partially or completely inhibit the growth of phylogenetically closely related microorganisms and even taxonomically unrelated bacteria. One such substance is bacteriocin-vibriocin, the production of which confers a selective advantage on *Vibrio cholerae* when changing habitat: transitioning from an infected macroorganism (the small intestine) to natural ecosystems (hydrobiota). This work used strains of *V. cholerae* isolated from humans and from water, as well as strains from the Frederick and Chakrabarti collection. Studies investigating the vibriocinogenic activity of *V. cholerae* established that cultures in plankton and biofilm under spring-summer temperature conditions, regardless of the presence of the *ctx* gene, exhibited a wide range of vibriocinogenic activity and suppressed the growth of indicator strains of the intestinal group and *V. cholerae*. At $6 \pm 1^\circ\text{C}$, the inhibitory activity of the studied strains decreased to a moderate level and narrow spectrum, however, even under conditions simulating the winter period, cholera vibrios were able to suppress the growth of intestinal pathogens.

Key words: *Vibrio cholerae*, bacteriocin, vibriocin, biofilm, plankton, spectrum of vibriocinogenic activity

For citation: Menshikova E.A., Titova S.V., Vodopyanov S.O., Selyanskaya N.A., Egizaryan L.A., Kruglikov V.D. Assessment of vibriocinogenic activity of ctx^+ and ctx^- strains of *Vibrio cholerae* O1 serogroup in planktonic form and in biofilm composition. Bacteriology. 2025; 10(2): 28–32. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-2-28-32

Для корреспонденции:

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

Адрес: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М.Горького, 117/40

Телефон: (863) 240-91-08

ORCID: 0000-0002-6003-4283

Статья поступила 14.11.2024, принята к печати 30.06.2025

For correspondence:

Elena A. Menshikova, PhD in Biological Sciences, Senior Researcher, Department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rosпотребнадзор

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

Phone: (863) 240-9108

ORCID: 0000-0002-6003-4283

The article was received 14.11.2024, accepted for publication 30.06.2025

Антагонистическая активность патогенных микроорганизмов является одним из свойств, обеспечивающих им селективные преимущества в микробных ассоциациях различных экосистем. На протяжении длительного периода эволюции микроорганизмы выработали множество факторов, позволяющих им выживать в конкурентной борьбе за существование в местах естественного обитания. Многие бактерии синтезируют биологически активные вещества белково-пептидной природы, ингибирующие частично или полностью рост филогенетически близкородственных микроорганизмов и даже таксономически неродственных бактерий. Эти вещества с весьма специфическим действием получили название бактериоцинов [1, 2].

Попадая в окружающую среду, холерный вибрион вступает во взаимоотношения со всеми компонентами этой системы и вынужден перестраивать работу клетки, что сопровождается синтезом биологически активных веществ и образованием новых связей, позволяющих адаптироваться к меняющимся условиям. Одним из таких веществ является бактериоцин-вибриоцин, продукция которого обеспечивает холерному вибриону селективное преимущество при смене места обитания: пребывание в инфицированном макроорганизме (в тонком кишечнике) с последующим существованием в природных экосистемах (гидробиоте) [3–5]. И.М.Бадаловой с соавт. (1987) была выявлена плазмида, детерминирующая признак образования вибриоцинов [6]. Однако сведения о вибриоциногенной активности холерных вибрионов были получены в планктонной форме, и нет данных об антагонистической активности возбудителя холеры в составе биопленок.

Целью работы явилась оценка вибриоциногенной (ингибирующей) активности *ctx⁺* и *ctx⁻* штаммов *Vibrio cholerae* O1 серогруппы в планктонной форме и в составе биопленок.

Материалы и методы

В работе использовали штаммы холерных вибрионов, выделенные от человека (*V. cholerae* O1 El Tor 5879 (*ctx⁺*), *V. cholerae* O1 El Tor 21157 (*ctx⁺*)) и из воды (*V. cholerae* O1 El Tor 21152 (*ctx⁺*), *V. cholerae* O1 El Tor 20000 (*ctx⁻*)), а также 11 штаммов из набора индикаторных культур коллекции Фредерика и Чакрабарты: *Shigella sonnei* M2/2, *Shigella flexneri* 3840, *Sh. sonnei* 56, *Sh. sonnei* 1712, *Sh. flexneri* 13681, *Shigella dysenteriae* 13683, *Escherichia coli* 1, *E. coli* ф, *E. coli* K-1, *V. cholerae* O1 El Tor 1077 (24), *V. cholerae* O1 classical 541 (54). Штаммы культивировали в бульоне Мартена (pH 7,6 ± 0,1) и чашках Петри с 1,5%-м агаром Мартена (pH 7,6 ± 0,1).

Спектр ингибирующей (вибриоциногенной) активности холерных вибрионов в планктоне и биопленке определяли методом перекрестного посева штаммов продуцентов к набору индикаторных культур [7]. На край пластины агара наносили каплю культуры (планктонная форма) и, наклоня чашку, давали капле стечь посередине в виде полосы шириной 0,5–0,7 см. Хитиновые фрагменты с биопленкой отпечатывали на агаровых пластинах также в виде полосы шириной 0,5–0,7 см. Выросшие культуры подвергали «холодовому шоку», помещая их на 18 ч в холодильник. Через 18 ч полосу роста продуцента счищали краем предметного

стекла. Остатки культуры на агаре убивали парами хлороформа. Чашки со штаммами-продуцентами проветривали в течение 2 ч. Через 2 ч на агаровые пластины с продуцентами подсеивали индикаторные культуры и помещали при 37°C на 24 ч.

Оценивали вибриоциногенную активность исследуемых штаммов по количеству лизированных индикаторных культур по 4-балльной системе. Контролем вибриоциногенной активности служили бульонные культуры исследуемых штаммов. Получение биопленок холерных вибрионов проводили описанными ранее и запатентованными способами, где в качестве биотического субстрата использовали хитиновый экоскелет речного рака *Astacus astacus* [8]. Исследуемые штаммы инкубировали в речной автоклавированной воде с субстратом и без в течение 30 суток (период наблюдения) при температуре 25 ± 1°C (зрелая биопленка), а затем последовательно помещали пробы в условия, моделирующие весенне-летний (15 ± 1°C) и зимний периоды (6 ± 1°C) [9]. Ранее нами были определены сроки формирования холерными вибрионами биопленки на хитиновом панцире речного рака [10]. Эксперименты повторяли трехкратно с соблюдением требований биологической безопасности [11].

Статистическую обработку полученных результатов по наличию вибриоциногенной активности и отсутствию ее у штаммов холерных вибрионов к 11 штаммам индикаторной группы проводили с использованием методов LibreOffice Calc. Определение критерия согласия χ^2 Пирсона и изучение линейной корреляции для произвольных таблиц проводили на онлайн-калькуляторе [12].

Результаты исследования и их обсуждение

Исходные (контрольные) штаммы холерных вибрионов обладали широким спектром вибриоциногенной активности и лизировали индикаторные штаммы, за исключением *V. cholerae* O1 classical 541 (54). В ходе исследования было установлено, что культивируемые при температуре 25 ± 1°C штаммы-продуценты в планктоне и биопленке, независимо от наличия гена *ctx* и источника выделения, лизировали штаммы-индикаторы кишечной группы и *V. cholerae* O1 El Tor 1077 (24), в то время как классический штамм возбудителя холеры *V. cholerae* O1 classical 541 (54) оказался устойчивым к вибриоциногенной активности штаммов-продуцентов (табл. 1). При этом рост индикаторных культур отсутствовал не только на полосе посева индикаторного штамма, но и за ее пределами.

При 15 ± 1°C токсигенные штаммы холерных вибрионов *V. cholerae* O1 El Tor №№ 21157, 21152 так же, как и при 25 ± 1°C, лизировали штаммы-индикаторы кишечной группы и *V. cholerae* O1 El Tor 1077 (24) (в биопленке и планктоне) и не ингибировали рост *V. cholerae* O1 classical 541 (54). У штамма *V. cholerae* O1 El Tor 5879 (*ctx⁺*) в планктонной форме снизилась ингибирующая активность в отношении штамма *E. coli* K-12. Рост штамма-индикатора отсутствовал только на полосе штамма-продуцента, тогда как в биопленке токсигенный штамм полностью подавил рост индикаторного штамма, выходя за полосу посева. У нетоксигенного водного штамма *V. cholerae* O1 El Tor 20000 наблюдалось снижение ингибирующей активности в планктоне и биопленке по отно-

Таблица 1. Оценка вибриоциногенной активности штаммов-продуцентов при температуре от 25 до 6 ± 1°C
 Table 1. Evaluation of vibriocinogenic activity of producer strains at temperatures from 25 to 6 ± 1°C

№ штамма продуцента / Producer strain number	Т, °C		Штаммы индикаторы / Strains indicators										
			Форма / Form	<i>Sh. sonnei</i> M2/2	<i>Sh. flexneri</i> 3840	<i>Sh. sonnei</i> 56	<i>Sh. sonnei</i> 1712	<i>Sh. flexneri</i> 13681	<i>Sh. dysenteriae</i> 13683	<i>E. coli</i> C1	<i>E. coli</i> φ	<i>E. coli</i> K-12	<i>V. cholerae</i> 1077 (24)
<i>V. cholerae</i> El Tor ctx ⁺ 5879	БП	25	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	ПЛ		#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	БП	15	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	ПЛ		#	#	#	#	#	#	#	#	+++	#	—
	БП	6	+++	+++	++	++	++	++	++	++	+++	—	—
	ПЛ		—	+	—	++	+	+	++	++	++	—	—
<i>V. cholerae</i> El Tor ctx ⁺ 21157	БП	25	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	ПЛ		#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	БП	15	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	ПЛ		#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	БП	6	+++	+	++	++	++	++	++	++	++	—	—
	ПЛ		—	—	—	—	—	—	—	+	++	—	—
<i>V. cholerae</i> ctx ⁺ 21152	БП	25	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	ПЛ		#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	БП	15	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	ПЛ		#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	БП	6	—	—	++	++	++	++	++	++	++	—	—
	ПЛ		—	—	+	+	+	+	+	+	+	—	—
<i>V. cholerae</i> El Tor ctx 20000	БП	25	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	ПЛ		#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	БП	15	#	#	#	#	#	#	#	#	#	#	—
	ПЛ		#	#	#	#	#	#	#	#	+++	+++	—
	БП	6	#	#	#	#	#	#	#	#	+++	—	—
	ПЛ		#	#	#	#	#	#	#	#	+++	—	—

БП – биопленка, ПЛ – планктон, # – широкий, +++ – умеренный, ++, + – узкий, «–» – отрицательный спектры ингибирующей активности. /
 БП – biofilm, ПЛ – plankton, # – wide, +++ – moderate, ++, + – narrow, “–” – negative spectrum of inhibitory activity.

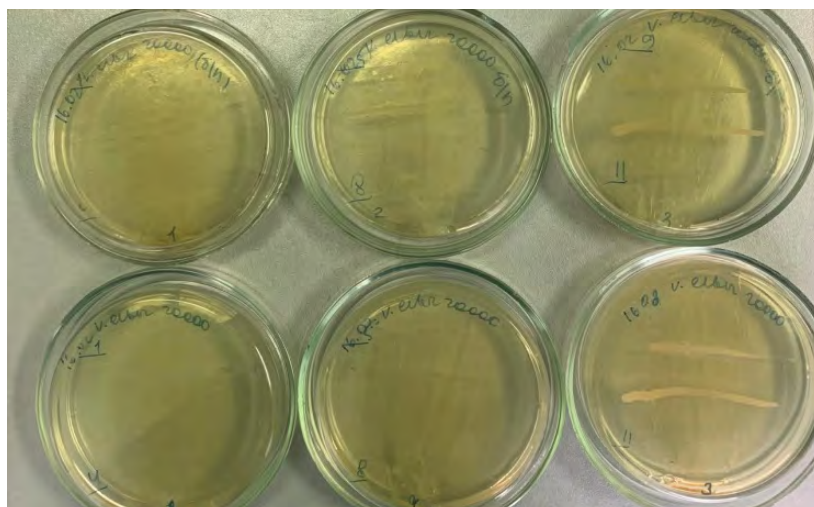
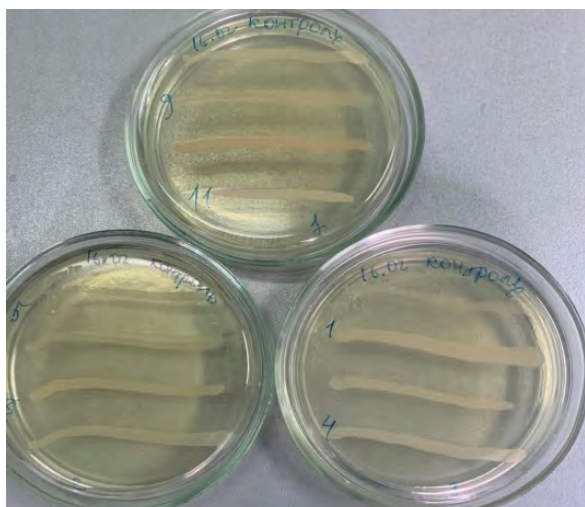


Рисунок. Спектр вибриоциногенной активности на примере штамма *V. cholerae* O1 El Tor 20000. Слева – контроль индикаторных штаммов, справа – вибриоциногенная активность штамма *V. cholerae* O1 El Tor 20000 в биопленке и планктоне (6 ± 1°C).
 Figure. Spectrum of vibriocinogenic activity using the example of the *V. cholerae* O1 El Tor 20000 strain. On the left is the control of indicator strains, on the right is the vibriocinogenic activity of the *V. cholerae* O1 El Tor 20000 strain in biofilm and plankton (6 ± 1°C).

Таблица 2. Статистическая оценка уровня значимости между биопленочными и планктонными пробами при температуре $6 \pm 1^\circ\text{C}$

Table 2. Statistical assessment of the significance level between biofilm and planktonic samples at a temperature of $6 \pm 1^\circ\text{C}$

	Пробы с вибриоциногенной активностью (от ++ до #) / Samples with vibriocinogenic activity (from ++ to #)	Пробы с вибриоциногенной активностью (от – до +) / Samples with vibriocinogenic activity (from – to +)	Всего проб / Total samples
БП	33	11	44
ПЛ	14	30	44
Всего/ Total	47	41	88

БП – биопленочная форма; ПЛ – планктонная форма. / БП – biofilm form; ПЛ – planktonic form.

шению к штаммам *E. coli* K-12 и *V. cholerae* O1 El Tor 1077 (24). Штамм-продуцент подавлял рост штаммов индикаторов только на полосе роста (табл. 1).

В условиях, моделирующих температуру воды в зимний период на юге России ($6 \pm 1^\circ\text{C}$), вибриоциногенная активность исследуемых штаммов снижалась. Возможно, это связано с замедлением обменных процессов или переходом части популяции холерных вибрионов в некультивируемое, но жизнеспособное состояние [13, 14], что, в свою очередь, приводило к снижению вибриоциногенной активности холерных вибрионов.

К действию вибриоцинов токсигенных штаммов (*V. cholerae* O1 El Tor №№ 5879, 21152 и 21157) в планктонной форме устойчивыми оказались от 2 до 9 штаммов-индикаторов. В составе биопленки эти же штаммы лизировали штаммы кишечной группы, но только на полосе роста продуцента. Нетоксигенный штамм *V. cholerae* O1 El Tor 20000, как в планктоне, так и в биопленке, частично подавлял рост микроорганизмов кишечной группы (на полосе штамма-продуцента наблюдали рост единичных колоний штаммов-индикаторов), а штаммы-индикаторы *V. cholerae* оказались устойчивы к его ингибирующему действию (табл. 1, рисунок).

С помощью критерия χ^2 Пирсона была оценена значимость различий между биопленочными и планктонными пробами по вибриоциногенной (ингибирующей) активности холерных вибрионов при температуре $6 \pm 1^\circ\text{C}$, поскольку при температуре от 15 до $25 \pm 1^\circ\text{C}$ статистически значимых различий не выявлено. За ширину спектра принимали пробы, в которых вибриоциногенная активность составляла от «++» до «#». Результаты с «-» и «+» значениями учитывались как отрицательные (табл. 2).

В результате вычисления χ^2 Пирсона был равен 24,31, при числе степеней свободы $f = 1$, критическое (табличное) значение χ^2 Пирсона составило 3,841, что меньше опытного в нашем эксперименте ($24,31 \geq 3,841$). Статистический анализ показал, что вибриоциногенная активность штаммов холерных вибрионов в биопленке выше, чем в планктонной форме. Уровень значимости данной взаимосвязи соответствует $p < 0,05$.

Таким образом, в результате проведенных исследований по изучению вибриоциногенной активности холерных вибрионов установлено, что культуры *V. cholerae* в планктоне и

биопленке в условиях, моделирующих весенне-летнюю температуру, независимо от наличия гена *ctx* и источника выделения обладали широким спектром вибриоциногенной активности и подавляли рост штаммов-индикаторов кишечной группы и *V. cholerae*. При температуре $6 \pm 1^\circ\text{C}$ ингибирующая активность исследуемых штаммов снижалась до умеренного и узкого спектра, однако даже в условиях, моделирующих зимний период, холерные вибрионы были способны подавлять рост штаммов-индикаторов.

Взаимоотношения с различными представителями водной микробиоты в период циркуляции возбудителя холеры во внешней среде до настоящего времени изучены недостаточно. Дальнейшие исследования в этом направлении позволят определить конкурентную способность холерных вибрионов как с гомологичными штаммами, так и с доминирующими видами микрофлоры поверхностных водоемов, поскольку антагонистическая активность является одним из факторов персистенции, обеспечивающих им селективные преимущества в микробных ассоциациях.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

- Заславская МИ, Махрова ТВ, Александрова НА, Игнатова НИ, Белова ИВ, Точилина АГ, и др. Перспективы использования бактериоцинов нормальной микробиоты в антибактериальной терапии. Современные технологии в медицине. 2019;11(3):136-145. DOI: 10.17691/stm2019.11.3.17
- Cui Y, Zhang C, Wang Y, Shi J, Zhang L, Ding Z, et al. Class Ila bacteriocins: diversity and new developments. Int J Mol Sci. 2012 Dec 6;13(12):16668-707. DOI: 10.3390/ijms131216668
- Бухарин ОВ, Перунова НБ, Долгушин ИИ. Микросимбиоз. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 2015;4:12-16.
- Бухарин ОВ, Лобакова ЕС, Немцева НВ. Ассоциативный симбиоз. Екатеринбург, 2007;264.
- Курбатова ЕМ, Меньшикова ЕА. Некоторые факторы адаптации холерных вибрионов в составе водных экосистем. Ветеринарная патология. 2017;2(60):10-16.
- Бадалова ИМ, Мишанькин БН, Сучков ИЮ. Исследование генетической детерминированности признака вибриоциногенности у холерных вибрионов биотипа Эль-тор. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. 1987;64(5):24-48.
- Иванова ЛВ, Воронежская ЛГ, Сомова АГ. Методические рекомендации по выявлению вибриоцинов холерных вибрионов O1 и неO1 сероваров. 1987;13.
- Водопьянов СО, Водопьянов АС, Меньшикова ЕА, Курбатова ЕМ, Титова СВ. Способ моделирования биопленок, формируемых *Vibrio cholerae* O1 серогруппы на поверхности хитина. Патент 2018: RU2662938C1.
- Температура воды в реке Дон [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://pogoda1.ru/water/reka-don> 2023 (дата обращения 15.05.2024).
- Меньшикова ЕА, Курбатова ЕМ, Водопьянов СО, Писанов РВ, Титова СВ. Оценка способности холерных вибрионов формировать биопленку на

поверхности хитинового панциря речного рака. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2021;98(4):434-438. DOI: 10.36233/0372-9311-99

11. Санитарно-эпидемиологические требования по профилактике инфекционных болезней. Санитарные правила и нормы. СанПиН 3.3686-21. М., 2021.
12. Анализ произвольных таблиц (хи-квадрат) [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://medstatistic.ru/calculators/calchit.html> (дата обращения 10.05.2025).
13. Соколенко АВ, Миронов АЮ. Некультивируемые формы *Vibrio cholerae* O1/O139. Национальные приоритеты России. 2014;3(13):86-89.
14. 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

References

1. Zaslavskaya MI, Makhrova TV, Aleksandrova NA, Ignatova NI, Belova IV, Tochilina AG, et al. Prospects for Using Bacteriocins of Normal Microbiota in Antibacterial Therapy (Review). *Sovremennye tehnologii v medicine*. 2019;11(3):136-145. DOI: 10.17691/stm2019.11.3.17 (In Russian).
2. Cui Y, Zhang C, Wang Y, Shi J, Zhang L, Ding Z, et al. Class Ila bacteriocins: diversity and new developments. *Int J Mol Sci*. 2012 Dec 6;13(12):16668-707. DOI: 10.3390/ijms131216668
3. Bukharin OV, Perunova NB, Dolgushin II. Mikrosimbioseno. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2015;4:12-16. (In Russian).
4. Bukharin OV, Lobakova ES, Nemtseva NV. Assotsiativnyi simbioz. *Ekaterinburg*, 2007;264. (In Russian).
5. Kurbatova EM, Men'shikova EA. Nekotorye faktory adaptatsii kholernykh vibriov v sostave vodnykh ekosistem. *Russian Journal of Veterinary Pathology*. 2017;2(60):10-16. (In Russian).
6. Badalova IM, Mishan'kin BN, Suchkov IYu. Issledovanie geneticheskoi determinirovannosti priznaka vibriotsinogenosti u kholernykh vibriov biotipa El'-tor. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1987;64(5):24-48. (In Russian).
7. Ivanova LV, Voronezhskaya LG, Somova AG. Metodicheskie rekomendatsii po vyavleniyu vibriotsinov kholernykh vibriov O1 i neO1 serovarov. 1987;13. (In Russian).
8. Vodop'yanov SO, Vodop'yanov AS, Men'shikova EA, Kurbatova EM, Titova SV. Sposob modelirovaniya bioplenok, formiruemykh *Vibrio cholerae* O1 serogruppy na poverkhnosti khitina. Patent 2018: RU2662938C1. (In Russian).
9. Temperatura vody v reke Don [Electronic resource]. Available at: <https://pogoda1.ru/water/reka-don> 2023. (accessed 15.05.24). (In Russian).
10. Menshikova EA, Kurbatova EM, Vodopyanov SO, Pisanov RV, Titova SV. Evaluation of the ability of cholera vibrios to form a biofilm on the surface of the chitinous shell of a crayfish by real-time PCR. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2021;98(4):434-438. DOI: 10.36233/0372-9311-99 (In Russian).

11. Sanitarно-epidemiologicheskie trebovaniya po profilaktike infektsionnykh boleznei. Sanitarnye privila i normy. SanPiN 3.3686-21. М., 2021. (In Russian).
12. Analiz proizvol'nykh tablits (khi-kvadrat) [Electronic resource]. Available at: <https://medstatistic.ru/calculators/calchit.html> (accessed 10.05.2025). (In Russian).
13. Sokolenco AV, Mironov AYU. Uncultivable forms of *Vibrio cholerae* O1/O139: summary and outlook. *Natsional'nye prioritety Rossii*. 2014;3(13):86-89. (In Russian).
14. 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 biofilm to the unculturable state. *Bacteriology*. 2024;9(2):8-13. DOI: 10.20953/2500-1027-2024-2-8-13 (In Russian).

Информация о соавторах:

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

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

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

Егизарян 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

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

Information about co-authors:

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

Sergey O. Vodopyanov, MD, PhD, DSc, chief researcher of the of the department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0003-4336-0439

Nadezhda A. Selyanskaya, PhD, MD, senior researcher of the department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-0008-4705

Liana A. Egizaryan, Junior Researcher of department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0001-6350-065X

Vladimir D. Kruglikov, MD, PhD, DSc, Chief Researcher, department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Anti-Plague Institute of Rospotrebnadzor
ORCID: 0000-0002-6540-2778