

Использование фрагментного секвенирования для видовой идентификации патогенных лептоспир в нативном материале

С.Е.Будаева, Н.В.Бренёва, А.В.Ляпунов, С.В.Балахонов

ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Роспотребнадзора, Иркутск, Российская Федерация

Цель. Видовая идентификация возбудителя лептоспироза в материале от мелких млекопитающих без выделения культуры с применением методов фрагментного секвенирования.

Материалы и методы. В работе использован материал, собранный в 2023–2024 гг. в Иркутской области, Приморском крае, Ханты-Мансийском и Ямало-Ненецком автономных округах и Республике Бурятия. Методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) исследовано 555 проб почек мелких млекопитающих, в 63 (11,4 ± 1,81%) из которых была обнаружена ДНК патогенных лептоспир. Секвенированы 9 участков генов из трех основных международных протоколов мультилокусного секвенс-типирования в 17 ПЦР-положительных пробах (27,0 ± 5,59%). Для определения вида лептоспир проведен анализ данных секвенирования методом выравнивания *in silico* в программе BioEdit 7.7.1 и сравнения с аллельными вариантами *Leptospira* spp. из базы данных PubMLST, а также с генными вариантами из GenBank с помощью сервиса BLAST. Проведен филогенетический анализ по фрагментам генов *glmU*, *mreA* и *rrs2*.

Результаты. При сравнении секвенированных нуклеотидных последовательностей с базой данных GenBank во всех исследуемых образцах ДНК определился вид *L. borgpetersenii* с процентным соотношением 95,86–100,00%. Филогенетический анализ по фрагментам генов *glmU*, *mreA* и *rrs2* подтвердил видовую принадлежность лептоспир в исследуемых образцах.

Заключение. На территориях Иркутской области, Приморского края, Ямало-Ненецкого автономного округа и Республики Бурятия впервые с применением метода фрагментного секвенирования в материале от мелких млекопитающих без выделения культуры идентифицирован возбудитель лептоспироза *L. borgpetersenii*. Показана дифференцирующая способность генов *glmU*, *mreA* и *rrs2*.

Ключевые слова: лептоспиры, нативный материал, видовая идентификация, фрагментное секвенирование, филогенетика, MLST

Для цитирования: Будаева С.Е., Бренёва Н.В., Ляпунов А.В., Балахонов С.В. Использование фрагментного секвенирования для видовой идентификации патогенных лептоспир в нативном материале. Бактериология. 2026; 11(1): 79–84. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-79-84

Use of fragment sequencing for species identification of pathogenic leptospires in native material

S.E.Budaeva, N.V.Breneva, A.V.Lyapunov, S.V.Balakhonov

Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, Irkutsk, Russian Federation

The aim is the species identification of the causative agent of leptospirosis in material from small mammals without culture isolation using fragment sequencing methods.

Materials and methods. The work uses material collected in 2023–2024 in the Irkutsk Region, Primorsky Krai, Khanty-Mansi and Yamalo-Nenets Autonomous Okrugs and the Republic of Buryatia. 555 small mammalian kidney samples were examined by PCR, of which 63 (11.4 ± 1.81%) contained DNA from pathogenic leptospira. Nine gene regions from the three main international protocols of multilocus sequence typing were sequenced in 17 PCR-positive samples (27.0 ± 5.59%). To determine the type of leptospira, the sequencing data was analyzed using the *in silico* alignment method in the BioEdit 7.7.1 program and compared with allelic variants of *Leptospira* spp. from the PubMLST database, as well as with gene variants from GenBank using the BLAST service. A phylogenetic analysis was performed on fragments of the *glmU*, *mreA* and *rrs2* genes.

Results. When comparing the sequenced nucleotide sequences with the GenBank database, the species *L. borgpetersenii* was determined in all the studied DNA samples with a percentage of 95.86–100.00%. Phylogenetic analysis of fragments of the *glmU*, *mreA* and *rrs2* genes confirmed the specific identity of *Leptospira* in the studied samples.

Для корреспонденции:

Будаева Софья Евгеньевна, младший научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78
ORCID: 0000-0003-3588-8145

Статья поступила 11.11.2025, принята к печати 30.03.2026

For correspondence:

Sofia E. Budaeva, Junior Researcher, Epidemiology Department, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor

Address: 78 Trilisser str., Irkutsk, 664047, Russian Federation
ORCID: 0000-0003-3588-8145

The article was received 11.11.2025, accepted for publication 30.03.2026

Conclusion. In the territories of the Irkutsk Region, Primorsky Krai, Yamalo-Nenets Autonomous Okrug and the Republic of Buryatia, the causative agent of leptospirosis *L. borgpetersenii* was identified for the first time using the method of fragment sequencing in material from small mammals without culture isolation. The differentiating ability of the *glmU*, *mreA* and *rrs2* genes has been shown.

Key words: *leptospira*, native material, species identification, fragment sequencing, phylogenetics, MLST

For citation: Budaeva S.E., Breneva N.V., Lyapunov A.V., Balakhonov S.V. Use of fragment sequencing for species identification of pathogenic leptospires in native material. Bacteriology. 2026; 11(1): 79–84. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-1-79-84

Лептоспироз, который вызывают патогенные бактерии рода *Leptospira*, является одним из самых распространенных и значимых зоонозов в мире. Мелкие млекопитающие играют ключевую роль в циркуляции лептоспир в качестве резервуаров и источников инфекции [1].

Согласно международному определителю бактерий Bergey's, на основании анализа генома род *Leptospira* подразделяется на 22 вида, из них 10 патогенных (*L. interrogans*, *L. kirschneri*, *L. borgpetersenii*, *L. santarosai*, *L. noguchii*, *L. weilii*, *L. kmetyi*, *L. alexanderi*, *L. alstonii*, *L. mayottensis*), 5 промежуточных (*L. inadai*, *L. fainei*, *L. broomi*, *L. licerasiae*, *L. wolffii*) и 7 сапрофитических (*L. biflexa*, *L. meyeri*, *L. wolbashii*, *L. vanthielii*, *L. terpstrae*, *L. yanagawae*, *L. idonii*) [2].

Для видовой идентификации лептоспир методом полногеномного секвенирования необходимо выделение чистой культуры возбудителя из исследуемого материала, что представляет собой длительный и трудоемкий процесс, значительно затрудняющий изучение генетических особенностей патогена [3]. В рамках эпидемиологического расследования, где важно быстрое получения результата по видовой принадлежности возбудителя, это практически невозможно. В связи с этим необходим поиск альтернативных методов, в т.ч. основанных на анализе фрагментов генома.

Методы фрагментного секвенирования позволяют проводить идентификацию лептоспир при наличии двух или нескольких фрагментов генов. Данные методы перспективно внедрять в лабораторную диагностику, чтобы расширять знания о циркулирующих возбудителях на различных территориях и получать новую информацию о геноме лептоспир. Описано определение вида лептоспир в материале от мелких млекопитающих методом секвенирования участков генов *lipL32*, *secY* и *rpoB* [4–6].

В настоящей работе нами апробирован метод видовой идентификации патогенных лептоспир по генам международных протоколов мультилокусного сиквенса-типирования (Multilocus sequence typing/MLST) в нативном материале от мелких млекопитающих без выделения культуры.

Цель исследования – видовая идентификация возбудителей лептоспирозов в материале от мелких млекопитающих без выделения культуры с применением методов фрагментного секвенирования.

Материалы и методы

В работе использован материал, собранный в 2023–2024 гг. на территориях Иркутской области, Приморского края, Ханты-Мансийского и Ямало-Ненецкого автономных округов (ЯНАО) и Республики Бурятии. Почки 555 мелких млекопитающих были исследованы методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на наличие ДНК патогенных лепто-

спир с применением тест-системы «ЛПС» производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва). Экстракцию ДНК осуществляли согласно требованиям МУ 1.3.2569-09 с помощью набора «РИБО-преп» производства ФБУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора (Москва). Пробы, показавшие положительный результат с пороговым циклом ≤ 15 , были отобраны для фрагментного секвенирования.

Аmplифицировали 13 участков генов из трех основных международных схем MLST (табл. 1) [7–9]. Данные схемы включают в себя гены домашнего хозяйства (*adk*, *icdA*, *glmU*, *pntA*, *mreA*, *secY*, *pfkB*, *sucA*, *tpiA* и *caiB*), гены патогенности (*lipL32* и *lipL41*) и ген *rrs2*, кодирующий 16sРНК. Амплификационную смесь готовили согласно инструкции к набору «Синтол» из расчета на одну пробу: dNTP – 2,5 мкл; 10хПЦР буфер Б – 2,5 мкл; MgCl₂ – 2,5; SynTaq-полимераза – 0,3; ddH₂O – до 25 мкл и праймеры в разведении 10 пМ по 1 мкл. К готовой реакционной смеси добавляли 5 мкл исследуемой ДНК.

Таблица 1. Фрагменты генов, которые применяли в работе
Table 1. Fragments of genes that were used in the work

№	Фрагмент гена / Gene fragment	Праймеры / Primers	Размер фрагмента для MLST, п.н. / Fragment size for MLST, bp
1	<i>glmU</i>	F:GGGCTGGAAAAGGTACACAA R:ACGCAAGCTCCTTTTGAATC	444
2	<i>pntA</i>	F:TAGGAAARATGAAACCRGGAAC R:AAGAAGCAAGATCCACAAYTAC	525
3	<i>sucA</i>	F:TCATTCCACTTYTAGATACGAT R:TCTTTTTTGAATTTTGGACG	640
4	<i>tpiA</i>	F:TTGCAGGAAACTGGAAAATGAAT R:GTTTTACRGAACCHCCGTAGAGAAT	639
5	<i>pfkB</i>	F:CGGAGAGTTTTATAARAAGGACAT R:AGAACACCCGCCGCAAAACAAT	432
6	<i>mreA</i>	F:GGCTCGCTCTYGACGGAAA R:TCCRTAACTCATAAAMGACAAAGG	435
7	<i>caiB</i>	F:CAACTTGCGGAYATAGGAGGAG R:ATTATGTTCCCGTGAYTCG	402
8	<i>adk</i>	F:GGGCTGGAAAAGGTACACAA R:ACGCAAGCTCCTTTTGAATC	531
9	<i>icdA</i>	F:GGGACGAGATGACCAGGAT R:CTTTTTGAGATCCGCAGCTTT	674
10	<i>secY</i>	F:ATGCCGATCATTTTTGCTTC R:CCGTCCTTAATTTTAGACTTCTTC	501
11	<i>lipL32</i>	F:ATCTCCGTTGCACTCTTTGC R:ACCATCATCATCATCGTCCA	450
12	<i>lipL41</i>	F:TAGGAAATTGCGCAGCTACA R:GCATCGAGAGGAATTAACATCA	493
13	<i>rrs2</i>	F:CATGCAAGTCAAGCGGAGTA R:AGTTGAGCCCGCAGTTTTTC	450

Для визуального учета результатов ПЦР с продуктами амплификации проводили горизонтальный гель-электрофорез в 1,5%-й агарозе с окрашиванием бромидом этидия. Далее с образцами, отобранными на этапе гель-электрофореза, ставили сиквенсную реакцию по Сэнгеру на генетическом анализаторе ABI 3500 с набором реагентов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems™).

Для определения вида лептоспир проводился анализ полученных последовательностей методом выравнивания *in silico* в программе BioEdit 7.7.1 и сравнения с аллельными вариантами *Leptospira* spp. из базы данных PubMLST [10], а также на платформе <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> с помощью сервиса Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).

Филогенетический анализ проводили методом максимального правдоподобия (модель GTR в программе MEGA версия 11.0.13) [11–13]. Для сравнения использовали образцы из базы данных PubMLST id: 2, 3, 5, 10, 20, 23, 35, 89, 90, 94, 95, 118, 119, 122, 124, 184, 255, 327, 338, 419, 475, 480, 481, 482, 483, 693, 697, 921, 1082, 1228, 1972, 1988, 1989, 1990.

Статистическая обработка полученных результатов проведена стандартными методами вариационной статистики [14].

Результаты и обсуждение

Всего за 2023–2024 гг. методом ПЦР исследовано 555 проб почек мелких млекопитающих, из которых в 63 (11,4 ± 1,81%) была обнаружена ДНК патогенных лептоспир. Для фрагментного секвенирования отобраны 17 ПЦР-положительных проб (27,0 ± 5,59%) от бурозубки (*Sorex* spp.

L., 1758) и восточно-азиатской мыши (*Apodemus peninsulae* Thomas, 1907) из Иркутской области, 13 полевых мышей (*Apodemus agrarius* Pallas, 1771) из Приморского края, бурозубки средней (*Sorex caecutiens* Laxmann, 1788) из Республики Бурятия и домовый мыши (*Mus musculus* L., 1758) из ЯНАО. Получены 64 нуклеотидные последовательности, из которых 60 депонированы в национальную базу VGARus под номерами: irkn016161–016165, irkn016167–16174, irkn017640–017654, irkn018015–018048.

Из 13 фрагментов генов в ПЦР амплифицировались 9 в разных образцах ДНК. ПЦР не прошла с праймерами к участкам генов *sucA*, *adk*, *tpiA*, *icdA*. В большинстве случаев удавалось отсекуировать фрагменты генов *mreA* (70,6 ± 11,05% из 17 образцов ДНК), *rrs2*, *secY*, *glmU* (64,7 ± 11,59%), *lipL41* (53,0 ± 12,11%) и *lipL32* (76,5 ± 10,29%). Длина полученных нуклеотидных последовательностей представлена в табл. 2. При сравнении полученных нуклеотидных последовательностей в BLAST у всех исследуемых образцов определился вид *L. borgpetersenii* с процентным соотношением 95,86–100,00%.

С фрагментами генов, полученных из ПЦР-положительных проб почек мелких млекопитающих, проведен филогенетический анализ. В данной работе представлен анализ фрагментов генов *glmU*, *mreA* и *rrs2*, которые перекрывали размер аллелей, предложенных для MLST, и имели до трех одиночных нуклеотидных полиморфизмов внутри анализируемого участка гена (табл. 1).

Из 11 фрагментов *glmU* два (образцы 1 Yanao и 1 UU) полностью совпали с последовательностями аллелей 24 и 26 по 1-й и 2-й схеме MLST, у 4 (образцы 7 РК, 11 РК, 12 РК, 17 РК) обнаружены инсерции/делеции. Еще у 4 фрагментов

Таблица 2. Длина полученных нуклеотидных последовательностей
 Table 2. The length of the obtained nucleotide sequences

№	Образец / Sample	<i>glmU</i>	<i>mreA</i>	<i>caiB</i>	<i>pfkB</i>	<i>pntA</i>	<i>lipL32</i>	<i>lipL41</i>	<i>rrs2</i>	<i>secY</i>
1	7 РК	531	662	–	–	–	408	515	468	476
2	11 РК	531	632	–	–	–	355	498	471	476
3	12 РК	531	685	–	–	–	374	451	480	476
4	17 РК	530	673	–	–	–	377	465	474	476
5	21 РК	444	1506	–	–	525	–	–	1318	–
6	23 РК	444	1506	–	–	–	421	–	–	–
7	25 РК	444	1506	402	532	–	421	–	–	1381
8	26 РК	–	1505	–	–	–	–	–	–	–
9	29 РК	–	–	402	–	–	421	483	1318	1381
10	32 РК	444	1506	402	532	525	443	–	1318	1381
11	36 РК	–	–	–	–	–	421	–	1318	1381
12	37 РК	–	1506	–	–	525	–	–	–	–
13	40 РК	444	–	–	–	–	–	–	–	–
14	48 I	–	–	–	–	–	399	245	481	–
15	72 I	–	–	–	–	–	407	423	461	491
16	1 UU	533	1615	–	–	413	398	425	482	489
17	1Yanao	533	1661	–	–	–	443	483	–	476
Всего	секвенировано фрагментов / Total fragments sequenced	11	12	3	2	4	13	9	11	11

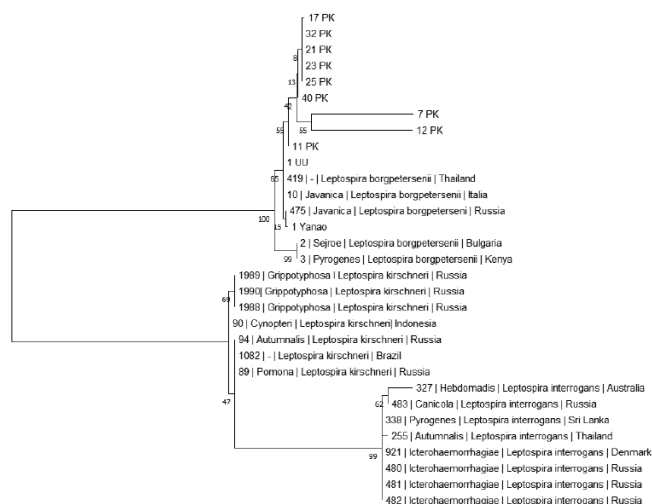


Рис. 1. Филогенетическое дерево максимального правдоподобия с бутстреп-валидацией 500 построено на основании полученных нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *glmU* (7 PK, 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 40 PK, 1 UU, 1 Yanao) и фрагментов из группы сравнения, которые имеют обозначения: id PubMLST / серогруппа / вид / территориальная принадлежность.

Fig. 1. The maximum likelihood phylogenetic tree with 500 bootstrap validation is based on the obtained nucleotide sequence fragments of the *glmU* gene (7 PK, 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 40 PK, 1 UU and 1 Yanao) and fragments from the comparison group, which have the following designations: PubMLST id / serogroup / type / territorial affiliation.

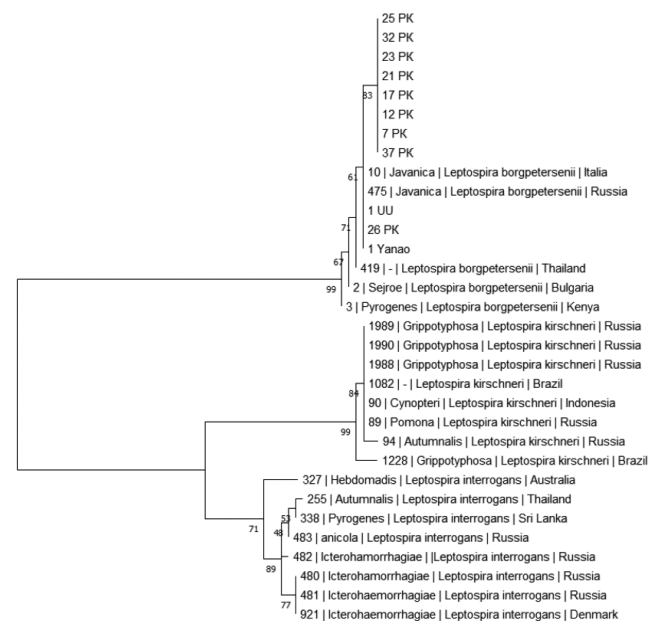


Рис. 2. Филогенетическое дерево максимального правдоподобия с бутстреп-валидацией 500, построенное на основании полученных нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *mreA* (7 PK, 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 37 PK, 1 UU, 1 Yanao) и фрагментов из группы сравнения, которые имеют обозначения: id PubMLST / серогруппа / вид / территориальная принадлежность.

Fig. 2. Phylogenetic maximum likelihood tree with 500 bootstrap validation, based on the obtained nucleotide sequences fragments of the *mreA* gene (7 PK, 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 37 PK, 1 UU, 1 Yanao) and fragments from the comparison group, which have the following designations: PubMLST id / serogroup / type / territorial affiliation.

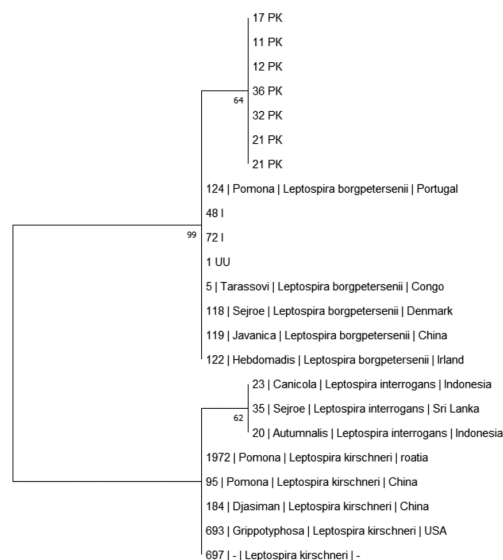


Рис. 3. Филогенетическое дерево максимального правдоподобия с бутстреп-валидацией 500, построенное на основании полученных нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *rrs2* (11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 29 PK, 32 PK, 36 PK, 1 UU, 48 I, 72 I) и фрагментов из группы сравнения, которые имеют обозначения: id PubMLST / серогруппа / вид / территориальная принадлежность.

Fig. 3. Phylogenetic maximum likelihood tree with 500 bootstrap validation, based on the obtained nucleotide sequences fragments of the *rrs2* gene (11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 29 PK, 32 PK, 36 PK, 1 UU, 48 I, 72 I) and fragments from the comparison group, which have the following designations: PubMLST id / serogroup / type / territorial affiliation.

(образцы 21 PK, 23 PK, 25 PK, 40 PK) обнаружено по 1 нуклеотидной замене, у 24 PK – 2 замены. Из 12 фрагментов *mreA* два (1 UU и 1 Yanao) полностью совпали с аллелями 26 и 36 по первым двум схемам MLST, 8 фрагментов (образцы 7 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 23 PK, 25 PK, 32 PK, 37 PK) имеют по 2 SNP – в позиции 195 гуанин заменил аденин и тимин – цитозин в положении 433. У фрагмента 26 PK выявлены инсерции/делеции и по 1-й схеме определился аллель 27. В 11 фрагментах гена *rrs2* установлен аллель 20 у всех образцов, из которых у 7 (образцы 11 PK, 12 PK, 17 PK, 21 PK, 29 PK, 32 PK, 36 PK) обнаружена 1 нуклеотидная замена цитозина на тимин в позиции 343. Наличие нуклеотидных полиморфизмов в полученных фрагментах, скорее всего, указывает на погрешности при секвенировании, связанные с выделением ДНК из нативной пробы почки, что не исключает наличие мутаций у исходного возбудителя.

Филогенетическое дерево максимального правдоподобия, построенное по фрагментам гена *glmU* 11 образцов: 9 из Приморского края и 2 из ЯНАО и Республики Бурятия, представлено на рис. 1. Образцы 12 PK и 7 PK отличаются от других образцов из Приморского края и образуют отдельную филогенетическую группу. Все исследуемые образцы распределились вместе с образцами из базы данных PubMLST вида *L. borgpetersenii*, что подтверждает их идентификацию в сервисе BLAST. Для сравнения добавлены фрагменты гена *glmU* других видов лептоспир, которые распространены в России (*L. kirschneri* и *L. interrogans*), и загруженные в базу данных PubMLST наши изоляты (id – 475, 1988, 1989, 1990). Нуклеотидная последовательность гена *glmU* образца из ЯНАО распределилась в группу вместе с изолированным

нами в Иркутской области штаммом (id 475). Две четко сформированные клады разделились на образцы, относящиеся к *L. borgpetersenii*, и изоляты других видов – *L. kirschneri* и *L. interrogans*. Важно отметить, что внутри клады *L. borgpetersenii* все образцы разделились не только территориально, но и по серогруппам – Javanica, Sejroe, Pyrogenes.

В филогенетическом дереве по фрагментам гена *mreA* все образцы расположились в одной группе, кроме трех – по одному из Приморского края (26 РК), Республики Бурятия (1 UU) и ЯНАО (1 Yanao). Они распределились в группу с выделенным нами штаммом из Иркутской области (id 475) и изолятом из Италии (id 10) (рис. 2). Все исследуемые образцы распределились в кладу вместе с *L. borgpetersenii* серогруппы Javanica, вторая клада включает в себя две группы образцов, объединенные по видам *L. interrogans* и *L. kirschneri*, так же как и в филогенетическом дереве по гену *glmU*.

Филогенетическое дерево, построенное на основании нуклеотидных последовательностей фрагментов гена *rrs2*, также образовало две клады – образцы вида *L. borgpetersenii* и видов *L. interrogans*, *L. kirschneri* (рис. 3). Данное дерево выглядит более консервативным и не образует группы в зависимости от серогрупп. Образцы из Приморского края образовали отдельную группу от образцов из Иркутской области и Республики Бурятия.

Заключение

На территориях Иркутской области, Приморского края, ЯНАО и Республики Бурятия впервые с применением методов фрагментного секвенирования идентифицирован возбудитель лептоспироза без выделения культуры из нативного материала от мелких млекопитающих. Установлено, что во всех отобранных пробах образцы ДНК принадлежат виду *L. borgpetersenii*. Это свидетельствует о широком распространении возбудителя данного вида на исследуемых территориях. Для филогенетического анализа показана дифференцирующая способность генов *glmU*, *mreA* и *rrs2*. Выявление нуклеотидных полиморфизмов во фрагментах исследуемых генов у образцов ДНК лептоспир из Приморского края, ЯНАО и Республики Бурятия, скорее всего, обусловлено погрешностями метода, но не исключает формирования независимых генетических линий внутри вида *L. borgpetersenii* на этих территориях. Данный вопрос требует дальнейшего изучения.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interests

The authors declare that there is no conflict of interest.

Вклад авторов

Все авторы подтверждают равное участие на всех этапах подготовки рукописи: разработка концепции, получение и анализ данных, написание и редактирование текста.

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

Author contributions

All authors contributed equally to the study conception, data collection, analysis, and the writing and editing of the manuscript.

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

Литература

1. Транквиловский ДВ, Скударева ОН, Иришкова ИЕ, Бренёва НВ, Шарапова НЕ, Корзун ВМ, и др. Природные очаги и многолетний анализ заболеваемости лептоспирозами в Российской Федерации, прогноз на 2025 г. Проблемы особо опасных инфекций. 2025;3:75-85. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-75-85
2. Picaud M. *Leptospira*. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Online Bergey's Manual Trust. 2017;18. DOI: 10.1002/9781118960608.gbm01244.pub2
3. Бренёва НВ, Киселева ЕЮ, Шаракшанов МБ, Борисов СА, Будаева СЕ, Балахонев СВ. Современные особенности изоляции и идентификации патогенных лептоспир в Сибири и на Дальнем Востоке. Проблемы особо опасных инфекций. 2023;4:62-67. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-62-67
4. Баимова РР, Рябико ЕГ, Останкова ЮВ, Токаревич НК. Оптимизация способа детекции и генотипирования патогенных лептоспир в биологических образцах. Клиническая лабораторная диагностика. 2025;70(3):210-7. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-3-210-217
5. Баимова РР, Рябико ЕГ, Гречишкина ДИ, Кармоков ИА, Халилов ЭС, Лыженко ИС, и др. Выявление и генотипирование патогенных лептоспир, циркулирующих среди грызунов на территории Санкт-Петербурга. Проблемы особо опасных инфекций. 2025;2:72-78. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-72-78
6. Viskontene AL, Radyuk EV, Shapkin OA, Khizhkin EA, Bulanenko VP, Voytsekhovskaya YA, et al. In search of pathogenic *Leptospira* species in Myotis and other vesper bats, Russia. Acta Trop. 2025 Feb;262:107506. DOI: 10.1016/j.actatropica.2024.107506
7. Boonsilp S, Thaipadungpanit J, Amornchai P, Wuthiekanun V, Bailey MS, Holden MT. A single multilocus sequence typing (MLST) scheme for seven pathogenic *Leptospira* species. PLoS Negl Trop Dis. 2013;7(1):e1954. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001954
8. Varni V, Ruybal P, Lauthier JJ, Tomasini N, Brihuega B, Koval A. Reassessment of MLST schemes for *Leptospira* spp. typing worldwide. Infect Genet Evol. 2014;22:216-22. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.08.002
9. Ahmed N, Devi SM, Valverde ML, Vijayachari P, Machang'u RS, Ellis WA, et al. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2006;5:28. DOI: 10.1186/1476-0711-5-28
10. Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. Wellcome Open Res. 2018 Sep 24;3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
11. Nei M. Molecular Evolution and Phylogenetics. Oxford University Press. 2000. DOI: 10.1016/S1055-7903(02)00245-2
12. Tamura K. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics. Evolution. 2021. DOI: 10.1093/molbev/msab120
13. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution. 1985;39:783-791. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x

14. Закс Л. Статистическое оценивание. Пер. с нем. Варыгина ВН; науч. ред. и предисл. Адлера ЮП, Горского ВГ. М.: Статистика, 1976.

References

1. Trankvilevsky DV, Skudareva ON, Irishkova IE, Breneva NV, Sharapova NE, Korzun VM, et al. Natural foci and long-term analysis of the leptospirosis incidence in the Russian Federation, forecast for 2025. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2025;3:75-85. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-3-75-85 (In Russian).
2. Picardeau M. *Leptospira*. Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. Online Bergey's Manual Trust. 2017;18. DOI: 10.1002/9781118960608.gbm01244.pub2
3. Breneva NV, Kiseleva EYu, Sharakshanov MB, Borisov SA, Budaeva SE, Balakhonov SV. Modern features of pathogenic *Leptospira* isolation and identification in Siberia and the Far East. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2023;4:62-67. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-62-67 (In Russian).
4. Baimova RR, Riabiko EG, Ostankova YuV, Tokarevich NK. Optimization of the method for detection and genotyping of pathogenic *Leptospira* in biological samples. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2025;70(3):210-7. DOI: 10.51620/0869-2084-2025-70-3-210-217 (In Russian).
5. Baimova RR, Riabiko EG, Grechishkina DI, Karmokov IA, Khalilov ES, Lyzenko IS, et al. Identification and genotyping of pathogenic *Leptospira* circulating among rodents in the city of St. Petersburg. *Problemy osobo opasnykh infektsii*. 2025;2:72-78. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-2-72-78 (In Russian).
6. Viskontene AL, Radyuk EV, Shapkin OA, Khizhkin EA, Bulanenko VP, Voytsekhovskaya YA, et al. In search of pathogenic *Leptospira* species in Myotis and other vesper bats, Russia. *Acta Trop*. 2025 Feb;262:107506. DOI: 10.1016/j.actatropica.2024.107506
7. Boonsilp S, Thaipadungpanit J, Amornchai P, Wuthiekanun V, Bailey MS, Holden MT. A single multilocus sequence typing (MLST) scheme for seven pathogenic *Leptospira* species. *PLoS Negl Trop Dis*. 2013;7(1):e1954. DOI: 10.1371/journal.pntd.0001954
8. Varni V, Ruybal P, Lauthier JJ, Tomasini N, Brihuega B, Koval A. Reassessment of MLST schemes for *Leptospira* spp. typing worldwide. *Infect Genet Evol*. 2014;22:216-22. DOI: 10.1016/j.meegid.2013.08.002

9. Ahmed N, Devi SM, Valverde ML, Vijayachari P, Machang'u RS, Ellis WA, et al. Multilocus sequence typing method for identification and genotypic classification of pathogenic *Leptospira* species. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2006;5:28. DOI: 10.1186/1476-0711-5-28
10. Jolley KA, Bray JE, Maiden MCJ. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res*. 2018 Sep 24;3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
11. Nei M. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. Oxford University Press. 2000. DOI: 10.1016/S1055-7903(02)00245-2
12. Tamura K. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics. *Evolution*. 2021. DOI: 10.1093/molbev/msab120
13. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution*. 1985;39:783-791. DOI: 10.1111/j.1558-5646.1985.tb00420.x
14. Zaks L. Statistical estimation. Per. s nem. Varygina VN; nauch. red. i predisl. Adlera YuP, Gorskogo VG. M.: Statistika, 1976. (In Russian).

Информация о соавторах:

Бренёва Наталья Владимировна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела эпидемиологии ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-9207-7536

Ляпунов Александр Валерьевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией природноочаговых вирусных инфекций ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0002-6947-5771

Балахонов Сергей Владимирович, доктор медицинских наук, профессор, директор института ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора
ORCID: 0000-0003-4201-5828

Information about co-authors:

Natalya V. Breneva, PhD, MD, Leading Researcher, Department of Epidemiology, Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0002-9207-7536

Aleksandr V. Lyapunov, PhD in Biological Sciences, Head of the Laboratory of Natural Focal Viral Infections, Irkutsk Anti-Plague Research Institute of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0002-6947-5771

Sergey V. Balakhanov, MD, PhD, DSc, Professor, Director, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rosпотребнадзор
ORCID: 0000-0003-4201-5828

НОВОСТИ НАУКИ

Укрепление биобезопасности России

Правительство РФ распорядилось направить Роспотребнадзору в 2026 году 409,1 млн рублей из бюджета на два объекта капитального строительства, которые среди прочего будут заниматься изучением опасных инфекций.

Финансирование пойдет по федеральному проекту «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)». В Воронеже будет построена лаборатория высокого уровня биологической безопасности для оперативной расшифровки и изучения опасных и неизвестных инфекций. Второй объект – комплекс зданий в Симферополе.

Проект «Санитарный щит страны – безопасность для здоровья (предупреждение, выявление, реагирование)» был запущен в июле 2021 года в рамках реализации № 492-ФЗ «О биологической безопасности в РФ». Основной его целью является развитие системы защиты населения от биологических и санитарно-эпидемиологических угроз, а основная задача – создание эффективного барьера для эпидемий внутри страны, в ближнем и дальнем зарубежье.

В цели проекта входит создание сети лабораторий высокого уровня биологической безопасности для оперативной расшифровки и изучения вспышек опасных и неизвестных инфекций. На реализацию тематических мероприятий в 2026 году выделяется более 2,2 млрд рублей, а общее финансирование федерального проекта составляет 12 млрд рублей.

Режим доступа: <https://microbius.ru/news/na-stroitelstvo-ob-ektov-biologicheskoy-bezopasnosti-strany-napravyat-409-mln-rubley>