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