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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Для корреспонденции:

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

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

Статья поступила 04.12.2025, принята к печати 30.06.2026

For correspondence:

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

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

The article was received 04.12.2025, accepted for publication 30.06.2026

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Методика исследования

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

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

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

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

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

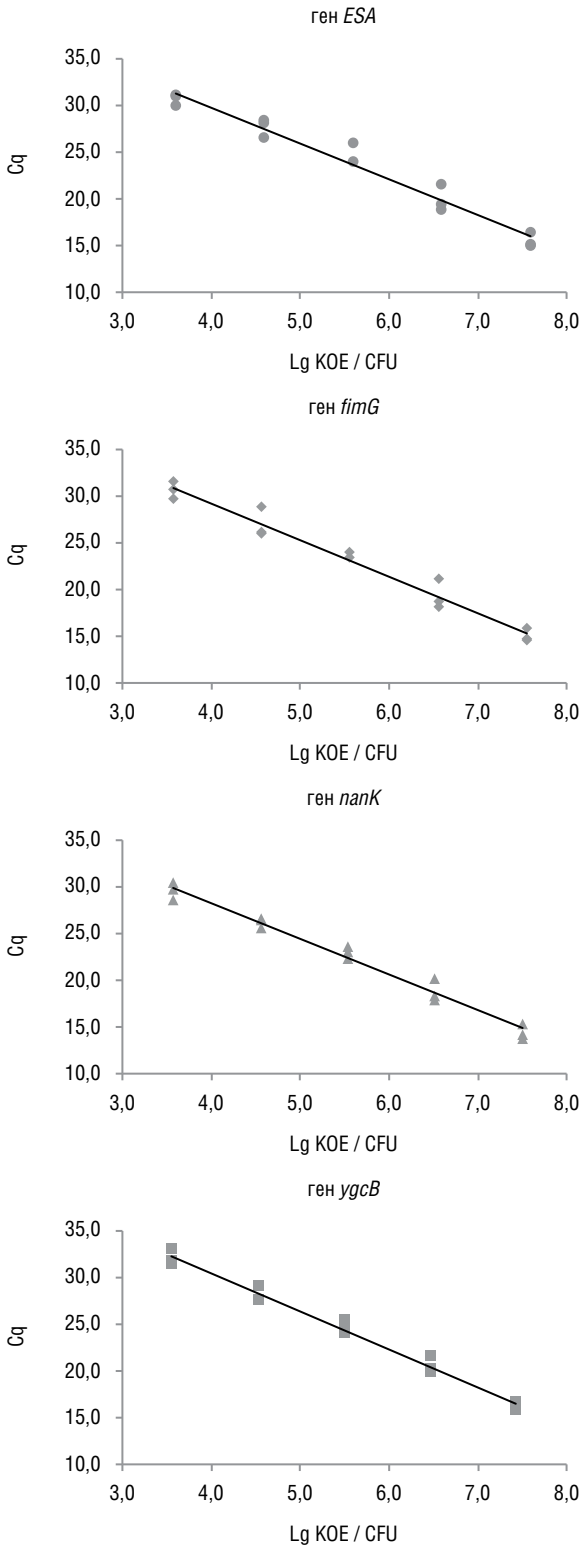


Рис. 1. **Калибровочные кривые для расчета концентрации жизнеспособных *C. sakazakii*.**
Fig. 1. ***Calibration curves for calculating the concentration of viable C. sakazakii.***

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

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

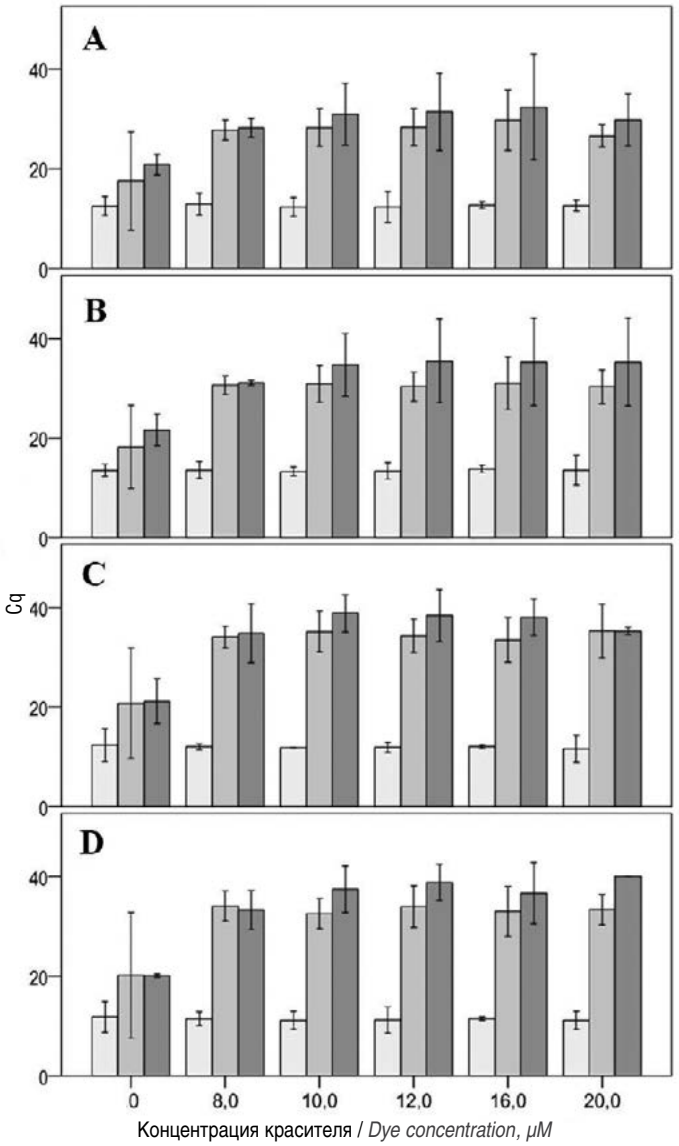


Рис. 2. **Значения пороговых циклов (Cq) при ПЦР-тестировании проб, обработанных с использованием моноазида пропидия: A – ампликон 152 п.о., B – ампликон 228 п.о., C – ампликон 495 п.о., D – ампликон 525 п.о.; n – живая культура (8,9 lg KOE); *n* – нежизнеспособная культура (8,9 lg KOE); n – нежизнеспособная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

бах, подвергшихся термической обработке и инкубации с моноазидом пропидия.

Результаты исследования

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

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

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

Заключение

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

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

Источники финансирования

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

Funding

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

Конфликт интересов

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

Conflict of interest

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

Вклад авторов

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

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

Author contributions

All authors contributed equally to this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

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

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

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

Литература

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

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

References

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

Информация о соавторах:

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

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

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

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

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

Information about co-authors:

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

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

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

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

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

НОВОСТИ НАУКИ

О холере

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

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

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