

DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-62-67

УДК 616.98:579.834.115

Н.В. Бренёва, Е.Ю. Киселева, М.Б. Шаракшанов, С.А. Борисов, С.Е. Будаева, С.В. Балахонов

Современные особенности изоляции и идентификации патогенных лептоспир в Сибири и на Дальнем Востоке*ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», Иркутск, Российская Федерация*

В последнее время изоляция культур патогенных лептоспир в Российской Федерации – крайне редкое явление. **Цель** работы – обобщить опыт Иркутского противочумного института по выделению и идентификации культур лептоспир с 2011 г. **Материалы и методы.** Методом ПЦР и в реакции микроскопической агглютинации (РМА) исследован материал от восьми лиц с подозрением на лептоспироз и от 942 мелких млекопитающих (ММ), бактериологическим методом – от людей и 260 ММ. Для идентификации культур использовали бактериологический температурный тест, РМА, ПЦР, мультилокусное сиквенс-типирование (MLST) и MALDI-TOF масс-спектрометрию (MS) с оригинальной базой белковых профилей лептоспир. В ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора получены полные геномы шести штаммов. **Результаты и обсуждение.** У людей на фоне приема антибиотиков не удалось изолировать лептоспиры, несмотря на положительные результаты ПЦР и РМА. От ММ выделено четыре культуры *Leptospira borgpetersenii* серогруппы *Javanica* и три *L. kirschneri* (*Grippityphosa*). Результаты идентификации методами MLST по схеме № 1 и MALDI-TOF MS идентичны. MLST *in silico* показало однотипность двух штаммов серогруппы *Grippityphosa* из Приморья и Хабаровска с профилем сиквенс-типов (ST) 110:100:94. У четырех штаммов серогруппы *Javanica* по схеме № 1 определяется ST 146, а по схемам № 2–3 выявлены уникальные одиночные нуклеотидные полиморфизмы. Таким образом, в 2012–2016 гг. в Сибири и на Дальнем Востоке изолировано семь культур патогенных лептоспир от носителей в природных очагах при их инфицированности от 12,0 до 48,9 %. Штаммы серогруппы *Javanica* отличаются особенностями MLST-профиля и более длительно приспособляются к питательным средам, чем штаммы серогруппы *Grippityphosa*.

Ключевые слова: лептоспиры, изоляция культур, идентификация, MLST, масс-спектрометрия.

Корреспондирующий автор: Бренёва Наталья Владимировна, e-mail: nbreneva@list.ru.

Для цитирования: Бренёва Н.В., Киселева Е.Ю., Шаракшанов М.Б., Борисов С.А., Будаева С.Е., Балахонов С.В. 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

Поступила 30.08.2023. Отправлена на доработку 18.10.2023. Принята к публ. 23.10.2023.

N.V. Breneva, E.Yu. Kiseleva, M.B. Sharakshanov, S.A. Borisov, S.E. Budaeva, S.V. Balakhonov

Modern Features of Pathogenic *Leptospira* Isolation and Identification in Siberia and the Far East*Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East, Irkutsk, Russian Federation*

Abstract. Recently, pathogenic *Leptospira* culture isolation is an extremely rare phenomenon in Russia. **The aim** of our work was to synthesize the lessons learned at the Irkutsk Anti-Plague Institute from *Leptospira* culture isolation and identification since 2011. **Materials and methods.** Material from eight individuals with suspected leptospirosis and from 942 small mammals (SM) was examined using PCR and microscopic agglutination test (MAT), from humans and 260 SM, applying bacteriological method. Bacteriological temperature test, MAT, PCR, MLST and MALDI-TOF mass spectrometry with the original *Leptospira* protein profiles base were used to identify cultures. Six complete genomes were generated at the Central Research Institute of Epidemiology of the Rosпотребнадзор. **Results and discussion.** *Leptospira* have not been isolated from humans against the background of taking antibiotics, despite the positive PCR and MAT results. Four cultures of *Leptospira borgpetersenii* of the *Javanica* serogroup and three *L. kirschneri* (*Grippityphosa*) have been isolated from SM. The results of identification using MLST scheme No. 1 and MALDI-TOF MS are identical. MLST *in silico* has shown the uniformity of two *Grippityphosa* serogroup strains from Primorie and Khabarovsk with a sequence-type (ST) profile 110:100:94. ST146 is determined in four *Javanica* serogroup strains according to scheme No. 1, and unique single nucleotide polymorphisms are detected according to schemes No. 2–3. Thus, in Siberia and the Far East, between 2012 and 2016, seven pathogenic *Leptospira* cultures were isolated from carriers in natural foci; carrier infection rate being 12.0–48.9 %. *Javanica* serogroup strains differ in the MLST profile characteristics and adapt to nutrient media for a longer time than *Grippityphosa* serogroup strains.

Key words: *Leptospira*, culture isolation, identification, MLST, mass spectrometry.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Funding: The authors declare no additional financial support for this study.

Bioethics: The study was carried out in accordance with the Declaration of Helsinki within the framework of research project 005-1-12, which was approved by the Local Independent Ethical Committee of the Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East of the Federal Service for Surveillance on Consumers' Rights Protection and Human Wellbeing (protocol No. 2, dated September 25, 2011). Material from people was obtained from other institutions.

Acknowledgements: The team of authors expresses utmost gratitude to colleagues from the Central Research Institute of Epidemiology of the Rospotrebnadzor: Lyudmila S. Karan and Konstantin V. Kuleshov, for highly professional assembly of the genomes of pathogenic *Leptospira*.

Corresponding author: Natalya V. Breneva, e-mail: nbrenea@list.ru.

Citation: Breneva N.V., Kiseleva E.Yu., Sharakshanov M.B., Borisov S.A., Budaeva S.E., Balakhonov S.V. Modern Features of Pathogenic *Leptospira* Isolation and Identification in Siberia and the Far East. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2023; 4:62–67. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2023-4-62-67

Received 30.08.2023. Revised 18.10.2023. Accepted 23.10.2023.

Breneva N.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9207-7536>

Kiseleva E.Yu., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3965-9801>

Sharakshanov M.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1114-1795>

Borisov S.A., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-1781-0846>

Budaeva S.E., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3588-8145>

Balakhonov S.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4201-5828>

Лептоспирозы – группа заболеваний, общих для человека и животных, отличающихся по клиническому течению и устойчивости возбудителя во внешней среде в зависимости от его вида и серовара [1].

В связи с трудностью выделения первые культуры лептоспир от человека были получены с использованием биологического метода в 1914–1915 гг., почти через 30 лет после описания заболевания. В СССР первая культура от больного получена в 1928 г. В эти же годы доказана роль мелких млекопитающих (ММ) как источников инфекции: в 1915–1916 гг. опубликованы данные по выделению возбудителя в Японии от полевки, серой и черной крысы, в 1929 г. – в России от серой крысы [2, 3].

Патогенные лептоспиры требовательны к питательным средам, отличаются медленным ростом (от пяти дней до трех месяцев) и чувствительны к любым внешним факторам, для них губительно высушивание, воздействие низких и высоких температур, солнечного света, УФ-облучения, дезинфектантов и других химических веществ, посторонней микрофлоры. Все это делает изоляцию и культивирование лептоспир крайне сложной задачей, требующей отдельной подготовки бактериологов и приготовления специальных питательных сред [4].

Пик выделения культур лептоспир в России пришелся на 50–60-е гг. прошлого века в связи с бурным развитием животноводства и ростом заболеваемости людей и животных [2, 3]. К сожалению, из-за сложностей культивирования и хранения большинство штаммов утрачено, в том числе коллекция Иркутского противочумного института. В настоящее время изоляция патогенных лептоспир – очень редкое явление [5].

Идентификация культур лептоспир представляет не меньше трудностей, чем их изоляция. Даже после укоренения геносистематики лептоспир основным таксоном остается серовар [6], определение которого требует наличия большого набора референтных штаммов, типовых сывороток или моноклональных антител, имеющих в наличии только в международном референс-центре в Нидерландах [7].

Природные очаги лептоспирозов распространены повсеместно, в Сибири и на Дальнем Востоке эндемичны по лептоспирозу Приморский и Хабаровский края, где высокие показатели заболеваемости населения лептоспирозами наблюдались до конца XX в. [8].

Цель работы – обобщить опыт выделения и идентификации культур лептоспир Иркутским противочумным институтом в 2011–2023 гг.

Материалы и методы

Все работы проводились в соответствии с требованиями биологической безопасности СП 1.3.2322-08 и СП 1.3.3118-13, транспортировка исследуемого материала – СП 1.2.036-95 (заменены на СанПиН 3.3686-21). Весь материал исследован в ПЦР и реакции микроскопической агглютинации (РМА). Кровь и/или мочу от трех больных лептоспирозом засеивали на питательные среды непосредственно «у постели больного», от двух больных с подозрением на лептоспироз и трех контактных с больными животными лиц – сразу после поступления в лабораторию института. Сделано 26 посевов от восьми человек.

Данные по отлову и исследованию мелких млекопитающих в природных очагах приведены в табл. 1. Бактериологическое исследование проводили в основном с материалом от зверьков, пойманных живыми. Всего сделан 741 посев от 260 ММ.

Отлов ММ проводили в соответствии с МУ 3.1.1029-01 (заменен на МР 3.1.0211-20) и МР 3.1.7.0250-21, использовали дилки Геро, конусы, канавки, капканы и живоловки. В Приморском крае силами Общества охотников и рыболовов производился отстрел ондатры. В Иркутске и в 2011 г. в Эхирит-Булагатском районе ММ отлавливали живыми и доставляли в лабораторию института, где производили вскрытие, отбор проб и посев почечных питательных сред. В 2012 г. в Эхирит-Булагатском районе ММ отлавливали всеми способами с постоянной проверкой орудий лова, вскрытие и посевы на питательные среды проводили в полевых условиях, затем материал доставляли в институт. В Приморском крае посевы проводили также в полевых условиях, инкубировали в термостате лаборатории ФБУЗ ЦГиЭ в Приморском крае или Спасской городской больницы, доставляли в лабораторию Приморской противочумной станции автотранспортом, затем в институт – авиатранспортом в термоконтейнерах. В Хабаровском крае ММ отлавливали в живоловки и доставляли в лабораторию Хабаровской противочумной станции, где осуществляли вскрытие, посев почечных и мочи из мочевого пузыря, если он был на-

Таблица 1 / Table 1

Результаты исследований проб от мелких млекопитающих
Results of studies of small mammals samples

Территория отлова ММ Territory of trapping small mammals (SM)	Период отлова ММ Period of trapping SM	Всего ММ / положительные в ПЦР, % Total number of SM / PCR positive, %	Количество ММ / количество посевов Number of SM / number of sown objects	Дата регистрации культур Date of culture registration
Иркутская область, Эхирит-Булагатский район Irkutsk Region, Ekhirit-Bulagatsky District	2011, сентябрь, октябрь 2011, September, October	28 / 39,3±9,2	12 / 48	Не выделены Not isolated
	2012, октябрь 2012, October	68 / 24,3±5,1	10 / 36	Не выделены Not isolated
Иркутск, микрорайон Ново-Ленино, болотно-озерный комплекс Irkutsk, Novo-Lenino microdistrict, Marsh-lake complex	2012, июль, август 2012, July, August	25 / 12,0±6,5	25 / 100	12 Dec 2012
	2013, июль, август 2013, July, August	22 / 31,8±9,9	22 / 88	Не выделены Not isolated
	2014, июль, август 2014, July, August	27 / 22,2±8,0	27 / 108	01 Dec 2014
	2015, июль, август 2015, July, August	14 / 28,6±12,1	14 / 56	Не выделены Not isolated
	2022, июль 2022, July	18 / 33,3±11,1	18 / 36	Не выделены Not isolated
Приморский край, Спасский район Primorsk Territory, Spassky District	2014, сентябрь, октябрь 2014, September, October	328 / 38,4±2,7	44 / 97	18 Dec 2014
	2016, октябрь 2016, October	88 / 48,9±5,3	15 / 30	27 Oct 2016
Хабаровск, пригород Khabarovsk, suburbs	2015, июль 2015, July	64 / 40,6±6,1	15 / 30	19 Aug 2015
Еврейская автономная область Jewish Autonomous Region	2015, июль 2015, July	64 / 21,9±5,2	30 / 49	Не выделены Not isolated
Приморский край Primorsk Territory	2016, июль, август 2016, July, August	71 / 12,7±4,0	13 / 28	Не выделены Not isolated
Иркутская область Irkutsk Region	2022, август 2022, August	125 / 18,4±3,5	15 / 35	Не выделены Not isolated

полнен, первичную инкубацию посевов в термостате, затем доставляли в институт авиатранспортом.

При работе с нуклеиновыми кислотами (НК) руководствовались МУ 1.3.2569-09. Для постановки ПЦР почки ММ размораживали непосредственно перед исследованием и готовили суспензии на гомогенизаторе Tissue Lyser LT (Qiagen). Экстракцию НК для ПЦР осуществляли с помощью набора «РИБО-преп», детекцию – методом ПЦР в реальном времени с тест-системой «АмплиСенс® *Leptospira*-FL» или тест-системой «ЛПС» для выявления патогенных лептоспир методом полимеразной цепной реакции (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора) на амплификаторе Rotor-Gene Q (Qiagen).

Бактериологические и серологические исследования на лептоспироз выполняли в соответствии с МУ 3.1.1128-02. Материал от людей, корковое вещество почек и мочу ММ засеивали слепым способом в пробирки со средами Ферворта – Вольфа и ЕМЖН (Becton Dickinson). Посевы инкубировали при 28 °С и просматривали в темном поле микроскопа «Микмед-6 вар. СД» (ЛОМО, Санкт-Петербург) с окуляром 10х и объективом 20х один раз в неделю в течение двух-трех месяцев. Морских свинок 150–

200 г и хомячков 25–40 г заражали внутрибрюшинно 1,5–2 мл материала, выдерживали 21 день и производили посев коркового слоя почек. Кроме того, у морских свинок через 1–3 часа после заражения засеивали кровь из сердца. Всего поставлено 88 биопроб. Для удаления посторонней микрофлоры использовали метод фильтрации через шприц-насадки с диаметром пор фильтров 0,2 мкм.

Выделенные культуры лептоспир идентифицировали по патогенности с помощью культурального температурного теста и ПЦР, до серогруппы – методом РМА с «Набором сывороток групповых агглютинирующих лептоспирозных» (ФГУП «Армавирская биофабрика»). Для определения вида лептоспир применяли масс-спектрометрическое прямое белковое профилирование (MALDI-TOF MS) и мультилокусное сиквенс-типирование (MLST). Подготовку образцов проводили после предварительного концентрирования культур центрифугированием при 12100–17000 g в течение 5–15 мин для MALDI-TOF MS – по протоколу для изолированных колоний [9] с использованием набора «MALDI-TOF проба» (НПО «Литех»), MLST – в соответствии с общепринятой методикой [10]. Масс-спектрометрическую

идентификацию культур лептоспир осуществляли на приборе Microflex LT (Bruker Daltonics) с использованием программ Flex Control 3.3. и MALDI Biotyper 3.0, а также оригинальной базы референсных спектров лептоспир [11]. MLST по схеме № 1 [10] ставили с использованием набора для амплификации ДНК и синтезированных праймеров (ЗАО «Синтол»), Exonuclease I 20 ед/мкл, FaspAP Thermosensitive Alkaline Phosphatase 1 ед/мкл (Thermo Scientific), набора реагентов BigDye® Terminator v1.1 (или 3.1) Cycle Sequencing Kit, амплификатора Thermal Cycler 2720 (Applied Biosystems), секвенатора ABI Prism 3500 XL (Applied Biosystems/Hitachi). Полученные нуклеотидные последовательности обрабатывали в программе VectorNTI (Invitrogen Corp.) и загружали на онлайн-платформу <http://pubmlst.org/leptospira/>, где определялся сиквенс-тип и вид микроорганизма [12]. Полногеномную ДНК выделяли с помощью набора DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen). Подготовка библиотек, секвенирование и сборка полных геномов проведены в ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора. Проведено MLST *in silico* [12]. Статистическая обработка результатов заключалась в вычислении средних значений и их ошибок.

Результаты и обсуждение

У больных лептоспирозом, несмотря на выявление специфических участков НК лептоспир в образцах мочи и крови, антител к лептоспирам серогрупп *Icterohaemorrhagiae* и *Tarassovi*, изолировать культуры лептоспир не удалось, вероятнее всего, из-за того, что обследование проводилось после начала лечения противомикробными препаратами. В 2021 г. у больного с подозрением на лептоспироз в посевах мочи через месяц инкубации были обнаружены подвижные спирохеты с характерной морфологией, ПЦР с культурой дала положительный результат, но при дальнейших пересевах рост лептоспир прекратился, культура не была идентифицирована. В 2022 г. у владельца собаки, умершей предположительно от лептоспироза, в моче при микроскопии обнаружены микроорганизмы, сходные по морфологии с лептоспирами, но ПЦР показала отсутствие специфических НК, при пересевах на питательные среды спирохеты не обнаружены.

Более успешными были попытки выделить культуры лептоспир от ММ в природных биотопах (табл. 1). Впервые в черте г. Иркутска в 2012 г. выделены две культуры на территории болотно-озерного комплекса микрорайона Ново-Ленино. Единичные лептоспиры в посевах обнаружены через месяц инкубации, для идентификации культур потребовалось несколько пассажей на животных и питательных средах для достижения достаточной концентрации микробных клеток, выделение культур зарегистрировано через четыре месяца после первичного посева. При других попытках изоляции культур в Иркутске

выделить еще одну культуру удалось только в 2014 г. В посевах материала из Эхирит-Булагатского района наблюдали единичные лептоспиры, но дальнейшие пассажи не дали результатов, у биопробных животных выявлены антитела к лептоспирам серогруппы *Icterohaemorrhagiae*.

В 2014 г. через две недели инкубации в посевах от пяти ММ, отловленных в Приморском крае, обнаружены единичные спирохеты с характерной морфологией и подвижностью. Выделение двух культур зарегистрировано через 2,5 месяца после первичного посева как через биопробу, так и прямым посевом на питательные среды. Обе культуры выделены в той же местности, что и в 1980–90-е гг. [13], в точке отлова ММ в окрестностях села Степное Спасского района. Интересно, что в 2016 г. культура лептоспир снова изолирована в этом же месте. В одном первичном посеве мочи от ПЦР-положительного ММ из Хабаровского края сразу по прибытии в институт обнаружили чистую культуру лептоспир, ее идентификация заняла около месяца. Лептоспиры были обнаружены в материале еще от двух ММ, но культуру выделить не удалось.

В 2022 г. в первичном посеве от ММ из Тулунского района обнаружены специфические НК и сходные по морфологии с лептоспирами микроорганизмы на фоне обильного роста посторонней микрофлоры. Культуру лептоспир не удалось очистить двойным пассажем на биопробных животных и фильтрацией через стерилизующие фильтры.

В изученных природных очагах у ММ определялись антитела к лептоспирам серогрупп *Autumnalis*, *Australis*, *Bataviae*, *Grippotyphosa*, *Icterohaemorrhagiae*, *Hebdomadis*, *Javanica*, *Sejroe*, *Tarassovi*.

Результаты идентификации выделенных от ММ в Сибири и на Дальнем Востоке в 2012–2016 гг. культур лептоспир представлены в табл. 2. Всего выделено четыре культуры *L. borgpetersenii* серогруппы *Javanica* и три – *L. kirschneri* (*Grippotyphosa*). Процесс изоляции и идентификации культур занимал от трех недель до четырех месяцев (табл. 1) в зависимости от присутствия посторонней микрофлоры и скорости адаптации лептоспир к питательным средам. Результаты идентификации методами MLST по схеме № 1 и MALDI-TOF белкового профилирования полностью идентичны. MLST *in silico* по трем схемам показало однотипность двух штаммов серогруппы *Grippotyphosa* из Приморья и Хабаровска с профилем сиквенс-типов (ST) 110:100:94. У четырех штаммов серогруппы *Javanica* ST 146 определяется только по схеме № 1, а по схемам № 2–3 выявлены уникальные одиночные нуклеотидные полиморфизмы в различных локусах, которые полностью совпадают у выделенных в г. Иркутске штаммов и имеют отличия у штамма из Приморья.

Таким образом, культуры лептоспир от ММ в природных очагах лептоспирозов изолированы как на высокоэндемичных территориях (Приморский

Таблица 2 / Table 2

Характеристика культур лептоспир, выделенных от носителей в природных очагах
 Characterization of *Leptospira* cultures isolated from carriers in natural foci

Место выделения Site of isolation	Год Year	Серогруппа Serogroup	MLST [12]	MALDI-TOF MS [9]	№ штамма* Strain No. *	Полный геном The complete genome
Иркутск, болотно-озерный комплекс Irkutsk, Marsh-lake complex	2012	<i>Javanica</i>	ST 146 Scheme 1, GenBank ID KU955322, KU955323, KU955324, KU975042, KU975043, KU975044, KU975045; PubMLST ID 580; New ST Scheme 2-3	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	И1 (4-И)	GenBank CP102682.1–CP102683.1
	2012	<i>Javanica</i>	ST 146 Scheme 1 New ST Scheme 2-3	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	И2 (5-И)	GenBank CP102680.1–CP102681.1
	2014	<i>Javanica</i>	ST 146 Scheme 1, PubMLST ID 581 New ST Scheme 2-3	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	И3 (108-И)	GenBank CP112978.1–CP112979.1
Приморский край, село Степное Primorsk Territory, Stepnoe settlement	2014	<i>Grippotyphosa</i>	ST 110 Scheme 1, PubMLST ID 582	<i>Leptospira kirschneri</i>	И4 (50-ПК)	–
	2014	<i>Javanica</i>	ST 146 Scheme 1, PubMLST ID 583 New ST Scheme 2-3	<i>Leptospira borgpetersenii</i>	И5 (34-ПК)	GenBank CP097464.1–CP097465.1
	2016	<i>Grippotyphosa</i>	ST 110 Scheme 1 ST 100 Scheme 2 ST 94 Scheme 3	<i>Leptospira kirschneri</i>	И7 (64-ПК)	GenBank CP112976.1–CP112977.1
Хабаровск Khabarovsk	2015	<i>Grippotyphosa</i>	ST 110 Scheme 1 ST 100 Scheme 2 ST 94 Scheme 3	<i>Leptospira kirschneri</i>	И6 (804-Khv)	GenBank CP125672.1–CP125673.1

Примечание: * номер штамма в коллекции Иркутского противочумного института, в скобках – оригинальное название.

Note: * strain number in the collection of the Irkutsk Anti-Plague Institute, original name – in parentheses.

и Хабаровский края), так и на территории с низкой эндемичностью (г. Иркутск). От людей культуру выделить не удалось, скорее всего, из-за раннего применения антибиотиков и позднего направления на лабораторное обследование.

Всего изолировано семь культур патогенных лептоспир от ММ при их общей инфицированности по результатам ПЦР от (12,0±6,5) до (48,9±5,3) %. ММ целесообразно отлавливать живыми, чтобы максимально сохранить жизнеспособность лептоспир. Кроме того, для успешной изоляции культур необходимо обеспечивать условия стерильности при посевах. Использование биопроб дает возможность избавиться от посторонней микрофлоры, накопить и подготовить культуры лептоспир для адаптации к питательным средам.

Успешность выделения культур лептоспир может зависеть и от серогруппы возбудителя. Известно, что лучше всего к условиям окружающей среды приспосабливаются лептоспиры серогруппы *Grippotyphosa*, которые наиболее часто удается изолировать от ММ в природных очагах на территории Российской Федерации [14]. Патогенные лептоспиры других серогрупп, и особенно *Icterohaemorrhagiae*, более требовательны к условиям культивирования [15], поэтому о доминирующей в очаге серогруппе возбудителя необходимо судить не только по изолированным культурам, но и по результатам РМА.

Выделенные штаммы серогруппы *Javanica* отличаются особенностями MLST-профиля и более

длительно приспосабливаются к питательным средам, чем штаммы серогруппы *Grippotyphosa*.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Финансирование. Авторы заявляют об отсутствии дополнительного финансирования при проведении данного исследования.

Биоэтика. Исследование проводилось согласно Хельсинской декларации в рамках темы НИР 005-1-12, которая одобрена Локальным независимым этическим комитетом ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (протокол от 25.09.2011 № 2). Материал от людей получен из других учреждений.

Коллектив авторов выражает большую признательность коллегам из ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора Людмиле Станиславовне Карань и Константину Валерьевичу Кулешову за высокопрофессиональную сборку геномов патогенных лептоспир.

Список литературы

1. Haake D.A., Levett P.N. Leptospirosis in humans. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2015; 387:65–97. DOI: 10.1007/978-3-662-45059-8_5.
2. Ананьин В.В. Лептоспирозы людей и животных. М.: Медицина; 1971. 352 с.
3. Терских В.И., Коковин И.Л. Лептоспирозные заболевания людей. М.: Медицина; 1964. 268 с.

4. Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., редакторы. Лабораторная диагностика опасных инфекционных болезней. Практическое руководство. М.: ЗАО «Шико»; 2013. 560 с.
5. Samoilov A.E., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Evengard B., Zueva E.V., Panferova Y.A., Ostankova Y.V., Zueva E.B., Valutite D.E., Kovalev E.V., Litovko A.R., Goncharov A.U., Semenov A.V., Khaifov K., Dedkov V.G. Lethal outcome of leptospirosis in southern Russia: Characterization of *Leptospira interrogans* isolated from a deceased teenager. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17(12):4238. DOI: 10.3390/ijerph17124238.
6. Paster B.J. Phylum XV. Spirochaetes Garrity and Holt 2001. In: Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. Springer, New York; 2010. Vol. 4. P. 471–566.
7. Leptospirosis Reference Centre. Typing with monoclonal antibodies [Электронный ресурс]. URL: <https://leptospira.amsterdamumc.org/leptospirosis-reference-centre/typing-with-monoclonal-antibodies/> [дата обращения 09.08.2023].
8. Онищенко Г.Г., Балахонов С.В., редакторы. Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения при ликвидации последствий наводнения на Дальнем Востоке. Новосибирск: Наука-Центр; 2014. 648 с.
9. Rettinger A., Krupka I., Grünwald K., Dyachenko V., Fingerle V., Konrad R., Raschel H., Busch U., Sing A., Straubinger R.K., Huber I. *Leptospira* spp. strain identification by MALDI TOF MS is an equivalent tool to 16S rRNA gene sequencing and multi locus sequence typing (MLST). *BMC Microbiology*. 2012; 12:185. DOI: 10.1186/1471-2180-12-185.
10. Boonsilp S., Thaipadungpanit J., Amornchai P., Wuthiekanun V., Bailey M.S., Holden M.T.G., Zhang C., Jiang X., Koizumi N., Taylor K., Galloway R., Hoffmaster A.R., Craig S., Smythe L.D., Hartskeerl R.A., Day N.P., Chantratita N., Feil E.J., Aanensen D.M., Spratt B.G., Peacock S.J. 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.
11. Бренёва Н.В., Самсонова А.П., Петров Е.М., Коновалова Ж.А., Остак А.С., Балахонов С.В. Спектры лептоспир для идентификации культур методом прямого белкового профилирования в программном обеспечении MALDI Biotyper (*Leptospira* protein spectra for MALDI Biotyper). Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2018621309, опубли. 16.08.2018. Бюл. № 8.
12. Jolley K.A., Bray J.E., Maiden M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res.* 2018; 3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1.
13. Макеев С.М., Марамонович А.С., Кондаков А.А., Чернявский В.Ф., Кузнецов А.П. Эпидемиологический мониторинг за лептоспирозами в регионах Сибири и Дальнего Востока. *Бюллетень ВШЦ СО РАМН*. 2004; 1(2):113–6.
14. Ананьина Ю.В., Самсонова А.П. Межвидовое и внутривидовое разнообразие лептоспир: филогенетические, таксономические и экологические аспекты. *Вестник РАМН*. 2000; 1:18–21.
15. Casanovas-Massana A., Pedra G.G., Wunder E.A. Jr, Diggle P.J., Begon M., Ko A.I. Quantification of *Leptospira interrogans* survival in soil and water microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 2018; 84(13):e00507-18. DOI: 10.1128/AEM.00507-18.
5. Samoilov A.E., Stoyanova N.A., Tokarevich N.K., Evengard B., Zueva E.V., Panferova Y.A., Ostankova Y.V., Zueva E.B., Valutite D.E., Kovalev E.V., Litovko A.R., Goncharov A.U., Semenov A.V., Khaifov K., Dedkov V.G. Lethal outcome of leptospirosis in southern Russia: Characterization of *Leptospira interrogans* isolated from a deceased teenager. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2020; 17(12):4238. DOI: 10.3390/ijerph17124238.
6. Paster B.J. Phylum XV. Spirochaetes Garrity and Holt 2001. In: Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology. Springer, New York; 2010. Vol. 4. P. 471–566.
7. Leptospirosis Reference Centre. Typing with monoclonal antibodies. (Cited 09 Aug 2023). [Internet]. Available from: <https://leptospira.amsterdamumc.org/leptospirosis-reference-centre/typing-with-monoclonal-antibodies/>.
8. Onishchenko G.G., Balakhonov S.V., editors. [Ensuring the Sanitary and Epidemiological Well-Being of the Population during Elimination of Consequences of the Flooding in the Far East]. Novosibirsk: "Science Center"; 2014. 648 p.
9. Rettinger A., Krupka I., Grünwald K., Dyachenko V., Fingerle V., Konrad R., Raschel H., Busch U., Sing A., Straubinger R.K., Huber I. *Leptospira* spp. strain identification by MALDI TOF MS is an equivalent tool to 16S rRNA gene sequencing and multi locus sequence typing (MLST). *BMC Microbiology*. 2012; 12:185. DOI: 10.1186/1471-2180-12-185.
10. Boonsilp S., Thaipadungpanit J., Amornchai P., Wuthiekanun V., Bailey M.S., Holden M.T.G., Zhang C., Jiang X., Koizumi N., Taylor K., Galloway R., Hoffmaster A.R., Craig S., Smythe L.D., Hartskeerl R.A., Day N.P., Chantratita N., Feil E.J., Aanensen D.M., Spratt B.G., Peacock S.J. 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.
11. Breneva N.V., Samsonova A.P., Petrov E.M., Kononova Zh.A., Ostyak A.S., Balakhonov S.V. [Leptospira spectra for culture identification by direct protein profiling in the MALDI Biotyper software (*Leptospira* protein spectra for MALDI Biotyper)]. Certificate of state registration of the database No. 2018621309, publ. 16 Aug 2018. Bul. No. 8.
12. Jolley K.A., Bray J.E., Maiden M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res.* 2018; 3:124. DOI: 10.12688/wellcomeopenres.14826.1.
13. Makeev S.M., Maramovich A.S., Kondakov A.A., Chernyavsky V.F., Kuznetsov A.P. [Epidemiological monitoring of leptospirosis in the regions of Siberia and the Far East]. *Bulletin of the East Siberian Scientific Center, Siberian Branch of RAMS*. 2004; 1(2):113–6.
14. Anan'ina Yu.V., Samsonova A.P. [Interspecific and intraspecific diversity of *Leptospira*: phylogenetic, taxonomic and ecological aspects]. *Bulletin of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2000; 1(1):18–21.
15. Casanovas-Massana A., Pedra G.G., Wunder E.A. Jr, Diggle P.J., Begon M., Ko A.I. Quantification of *Leptospira interrogans* survival in soil and water microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 2018; 84(13):e00507-18. DOI: 10.1128/AEM.00507-18.

Authors:

Breneva N.V., Kiseleva E.Yu., Sharakshanov M.B., Borisov S.A., Budueva S.E., Balakhonov S.V. Irkutsk Research Anti-Plague Institute of Siberia and Far East. 78, Trilissera St., Irkutsk, 664047, Russian Federation. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

Об авторах:

Бренёва Н.В., Киселева Е.Ю., Шаракианов М.Б., Борисов С.А., Будаева С.Е., Балахонов С.В. Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока. Российская Федерация, 664047, Иркутск, ул. Трилисера, 78. E-mail: adm@chumin.irkutsk.ru.

References

1. Haake D.A., Levett P.N. Leptospirosis in humans. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2015; 387:65–97. DOI: 10.1007/978-3-662-45059-8_5.
2. Anan'ina V.V. [Human and Animal Leptospirosis]. Moscow: "Medicine"; 1971. 352 p.
3. Tersikh V.I., Kokovin I.L. [Leptospirosis Diseases in Humans]. Moscow: "Medicine"; 1964. 268 p.
4. Onishchenko G.G., Kutyrev V.V., editors. [Laboratory Diagnostics of Dangerous Infectious Diseases. Practice Guidelines]. Moscow: "Shiko"; 2013. 560 p.