

DOI: 10.21055/0370-1069-2026-1-174-181

УДК 57.083.134:615.012

К.И. Холматов, Н.И. Вахрушина, К.С. Гумаюнова, О.С. Зинина, В.А. Бенцлер, С.В. Астафьева,
М.М. Чалбушев, А.А. Малькова, М.В. Овчинникова, А.В. Комиссаров, Е.Г. Абрамова

Применение новой основы питательных сред – пептона из фибрина – в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры

Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб», Саратов, Российская Федерация

ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора является единственным производителем зарегистрированных на территории РФ медицинских изделий для фагодиагностики чумы и холеры. Основной стадией изготовления диагностических бактериофагов является их накопление в культуре штамма-продуцента, предполагающее использование питательных сред (ПС) на различной белковой основе. Исследователями отмечаются все более учащающиеся случаи нестандартности последних, что нередко приводит к ухудшению качественно-количественных показателей фаголизатов. **Цель работы** – исследование возможности применения пептона из фибрина в качестве альтернативной основы питательных сред на этапе накопления бактериофагов в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры. **Материалы и методы.** В качестве штаммов-продуцентов использовали *Yersinia pestis* EV НИИЭГ и специфичные к нему бактериофаги – диагностический Покровской и Л-413С; *Vibrio cholerae cholerae* O1 145 и *V. cholerae* El Tor O1 75М и специфичные к ним бактериофаги – классический (С) и эльтор (XII и XV) соответственно. Контроль активности и специфичности чумных бактериофагов, накопленных на экспериментальных ПС, проводили используя штаммы *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* I–VI серотипов. Контроль активности и специфичности холерных бактериофагов, накопленных на экспериментальных ПС, проводили используя соответствующие штаммы *V. cholerae cholerae* и *V. cholerae* El Tor O1. Состав жидких ПС на основе пептона из фибрина в зависимости от потребностей культивируемых микроорганизмов отличался по показателям: аминному азоту, содержанию кофакторов неорганической и органической природы, водородному показателю. **Результаты и обсуждение.** Применение пептона из фибрина в качестве основы ПС для накопления чумных (Покровской и Л-413С) и холерных (С, XII и XV) бактериофагов показало не уступающий или превосходящий результат в сравнении с контрольными питательными средами, нормируемыми производственными документами. Экспериментальные серии бактериофагов, в сравнении с коммерческими препаратами, показали соответствие требованиям нормативной документации.

Ключевые слова: бактериофаги, пептон, питательные среды, фибрин, холера, чума.

Корреспондирующий автор: Холматов Константин Игоревич, e-mail: rusrap1@microbe.ru.

Для цитирования: Холматов К.И., Вахрушина Н.И., Гумаюнова К.С., Зинина О.С., Бенцлер В.А., Астафьева С.В., Чалбушев М.М., Малькова А.А., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В., Абрамова Е.Г. Применение новой основы питательных сред – пептона из фибрина – в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2026; 1:174–181. DOI: 10.21055/0370-1069-2026-1-174-181

Поступила 02.07.2025. Отправлена на доработку 19.11.2025. Принята к публикации 09.12.2025.

K.I. Kholmatorov, N.I. Vakhrushina, K.S. Gumayunova, O.S. Zinina, V.A. Bentsler, S.V. Astaf'eva,
M.M. Chalbushev, A.A. Mal'kova, M.V. Ovchinnikova, A.V. Komissarov, E.G. Abramova

Application of a New Nutrient Medium Substrate – Peptone Made from Fibrin – in the Production of Preparations for the Phage Diagnostics of Plague and Cholera

Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe”, Saratov, Russian Federation

Abstract. The Russian Research Anti-Plague Institute “Microbe” of the Rospotrebnadzor is the only manufacturer of medical products for phage diagnostics of plague and cholera registered in the Russian Federation. The main stage of diagnostic bacteriophage production is their accumulation in the producer strain culture, which involves the use of nutrient media (NM) with various protein bases. Researchers have noted an increasing number of cases of non-standardization of the latter, which often leads to deterioration in the qualitative and quantitative parameters of phage lysates. **The aim** of the work was to investigate the possibility of using fibrin peptone as an alternative basis for nutrient media at the stage of bacteriophage accumulation in the production of preparations for phage diagnostics of plague and cholera. **Materials and methods.** *Yersinia pestis* EV NIIEG was used as producer strain together with specific bacteriophages such as diagnostic Pokrovskaya and L-413C ones; *Vibrio cholerae cholerae* O1 145 and *V. cholerae* El Tor O1 75M and their specific bacteriophages – classical (C) and El Tor (XII and XV), were also used, respectively. The activity and specificity of plague bacteriophages accumulated on experimental nutrient media were tested using *Y. pestis* and *Y. pseudotuberculosis* strains, serotypes I–VI. The activity and specificity of cholera bacteriophages accumulated on experimental nutrient media were monitored using the corresponding strains of *V. cholerae cholerae* and *V. cholerae* El Tor O1. The composition of liquid nutrient media based on fibrin peptone varied depending on the needs of the cultured microorganisms in terms of the following parameters: amine nitrogen, inorganic and organic cofactor content, and hydrogen index. **Results and discussion.** The use of fibrin peptone as a nutrient medium base for the accumulation of plague (Pokrovskaya and L-413S) and cholera (C, XII, and XV) bacteriophages has demonstrated the results equal to or superior to those of control nutrient

media specified by production regulations. Experimental bacteriophage series, compared with commercial preparations, showed compliance with regulatory requirements.

Key words: bacteriophages, peptone, nutrient media, fibrin, cholera, plague.

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

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

Corresponding author: Konstantin I. Kholmatov, e-mail: rusrapi@microbe.ru.

Citation: Kholmatov K.I., Vakhrushina N.I., Gumayunova K.S., Zinina O.S., Bentsler V.A., Astaf'eva S.V., Chalbushev M.M., Mal'kova A.A., Ovchinnikova M.V., Komissarov A.V., Abramova E.G. Application of a New Nutrient Medium Substrate – Peptone Made from Fibrin – in the Production of Preparations for the Phage Diagnostics of Plague and Cholera. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2026; 1:174–181. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2026-1-174-181

Received 02.07.2025. Revised 19.11.2025. Accepted 09.12.2025.

Kholmatov K.I., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8220-1794>
 Vakhrushina N.I., ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-1391-4295>
 Gumayunova K.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1341-3037>
 Zinina O.S., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4951-091X>
 Bentsler V.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-6814-8948>
 Astaf'eva S.V., ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-5087-9074>

Chalbushev M.M., ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-8230-0608>
 Mal'kova A.A., ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-0249-6558>
 Ovchinnikova M.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1736-7453>
 Komissarov A.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1609-0384>
 Abramova E.G., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8798-1547>

Эпидемиологическая ситуация и прогноз по чуме и холере в последнее десятилетие продолжают оставаться неблагоприятными во многих странах мира, в том числе в Российской Федерации [1, 2]. На сегодняшний день в лабораторной диагностике чумы и холеры, наряду с молекулярно-генетическими методами, остаются актуальными серологические и бактериологические методы исследований. Согласно МУ 3.1/4.2.4065-24 «Эпидемиологический надзор в природных очагах чумы на территории Российской Федерации: мониторинг, диагностика, профилактика» и МУК 4.2.3746-22 «Организация и проведение лабораторной диагностики холеры в лабораториях различного уровня», данные методы предусматривают использование соответствующих медицинских изделий для *in vitro* диагностики (МИ ИВД) с целью индикации, идентификации и дифференциации возбудителей чумы и холеры, в том числе и препаратов для фагодиагностики.

В Российской Федерации единственным производителем препаратов для фагодиагностики чумы и холеры является ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора [3]. При производстве указанных препаратов на стадии получения полуфабрикатов-фаголизатов традиционно используют жидкие и плотные бактериальные питательные среды (ПС) из пищевого белкового сырья. Применение перечисленных основ ПС в производстве указанных МИ ИВД обуславливает высокую стоимость выпускаемых препаратов [4]. В настоящее время отмечается увеличение нестандартности ПС, в ряде случаев приводящей к ухудшению показателя их эффективности на этапе накопления бактериофагов в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры [5]. Снижение себестоимости препаратов диагностических бактериофагов может быть достигнуто за счет использования в технологии производства сред из непищевого сырья [6].

Одной из основных функций бактериальных ПС, используемых в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры, является обеспечение воспроизводимости процесса культивирования и

максимального накопления биомассы гомологичной культуры, а на стадии получения полуфабрикатов-фаголизатов – максимального накопления активных и специфичных вирусных частиц в отношении соответствующего возбудителя. Применение нестандартных питательных основ не гарантирует получения полуфабриката-фаголизата с уровнем активности, обеспечивающим диагностическую ценность готового препарата.

В ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора разработана технология производства сухого пептона из фибрина из отходов производства профилактического иммунологического лекарственного препарата «Иммуноглобулин антирабический жидкий, раствор для инъекций» по модифицированному способу Мартена [7]. Пептон обладает следующими физико-химическими характеристиками: порошок бело-желтого цвета, полностью растворимый в воде; аминный азот – 1,34 %; общий азот – 5,74 %; полипептиды – 5,2 %; степень расщепления белка – 23,46 %, общее содержание аминокислот – 49,32 %; содержание свободных аминокислот – 10,06 %. Препарат содержит необходимое количество основных аминокислот, потребляемых патогенными биологическими агентами (ПБА), и может быть использован в качестве белковой основы для изготовления бактериальных ПС.

Целью нашей работы являлось исследование возможности применения пептона из фибрина в качестве альтернативной основы ПС на этапе накопления бактериофагов в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры. Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи исследования: 1) подобрать оптимальные составы ПС на основе пептона из фибрина и изучить их биологические показатели качества при накоплении бактериофагов, специфичных в отношении *Yersinia pestis* и *Vibrio cholerae*, в сравнении с производственными ПС; 2) получить образцы чумных и холерных бактериофагов в лиофилизированном виде и сравнить их с коммерческими сериями препаратов для фагодиагностики чумы и холеры на соответствие требованиям нормативной документации.

Материалы и методы

В качестве штаммов-продуцентов использовали *Y. pestis* EV НИИЭГ и специфичные к нему бактериофаги – диагностический Покровской (далее – бактериофаг Покровской) и Л-413С; *V. cholerae cholerae* O1 145 и *V. cholerae* El Tor O1 75М и специфичные к ним бактериофаги – классический (С) и эльтор (XII и XV) соответственно.

Контроль активности и специфичности чумных бактериофагов, накопленных на экспериментальных ПС, проводили используя штаммы *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* I–VI серотипов.

Контроль активности и специфичности холерных бактериофагов, накопленных на экспериментальных ПС, проводили используя соответствующие штаммы *V. cholerae cholerae* и *V. cholerae* El Tor O1.

Все культуры получены из Государственной коллекции патогенных бактерий ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора.

Пептон из фибрина получали протеолизом фибрина пепсином при следующих условиях [7]: расход ферментного препарата – 14 г на 1 кг фибрина; гидромодуль 1:2; температура – плюс 42 °С; pH – 2,0; время протеолиза – 18 ч. Сухую форму пептона из фибрина получали путем лиофилизации жидкого препарата на сублимационной сушильной установке Epsilon 2-6D (Martin Christ, Германия).

Состав экспериментальных жидких ПС изменяли по количеству пептона из фибрина, выраженного концентрацией аминного азота, кофакторов неорганической и органической природы и водородного показателя в зависимости от потребностей культивируемых микроорганизмов (табл. 1, 2). В качестве контрольных использовали регламентированные производственной документацией жидкие ПС: при культивировании *Y. pestis* – ПС на основе ферментативного гидролизата мяса по Хоттингеру с содержанием 0,14 % аминного азота, 0,5 % пептона ферментативного, 0,3 % NaCl, 0,025 % Na₂SO₃, pH – 7,35; при культивировании *V. cholerae* – ПС на основе панкреатического гидролизата казеина коммерческого (ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) с содержанием 0,12 % аминного азота, 0,5 % NaCl, 0,05 % (NH₄)₂MoO₄, pH – 7,60. Для определения количества фаговых частиц, контроля активности и специфичности действия бактериофагов использовали полужидкие и плотные ПС с содержанием 0,7 и 1,4 % агар-агара соответственно, из ферментативного гидролизата мяса по Хоттингеру следующего состава: 0,10 % аминного азота; 0,5 % NaCl; 0,09 % Na₂HPO₄; 0,05 % K₂HPO₄; 0,07 % (NH₄)₂MoO₄; 0,005 % Na₂S₂O₅; для *Y. pestis* и *Y. pseudotuberculosis* pH – 7,2; для *V. cholerae* pH – 7,6. Экспериментальные и контрольные образцы основ ПС предварительно контролировали по физико-химическим и биологическим показателям качества в соответствии с ГОСТ 29311-1992 «Гидролизаты панкреатические для бактериальных питательных сред. Общие технические условия» и

МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред».

Культивирование штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ проводили в течение (24±2) ч при температуре (28±1) °С. Накопление бактериофагов Покровской и Л-413С проводили при температуре (28±1) °С в течение (18±1) ч. Культивирование гомологичных культур *V. cholerae cholerae* O1 145 проводили в течение (4±1) ч при температуре (37±1) °С. Накопление бактериофага С проводили при температуре (37±1) °С в течение (3±1) ч. Культивирование гомологичной культуры *V. cholerae* El Tor O1 75 проводили в течение (3±1) ч при температуре (37±1) °С. Накопление бактериофагов XII и XV проводили при температуре (37±1) °С в течение (3±1) ч. Размножение бактериофагов осуществляли до полного просветления культуральной жидкости, которое свидетельствовало об окончании процесса лизиса бактериальных клеток. Определение концентрации микробных клеток осуществляли по отраслевым стандартам мутности производства ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России: *Y. pestis* – ФСО 3.1.00085, соответствующего 10 МЕ; *V. cholerae* – ФСО 3.1.00086, соответствующего 5 МЕ.

Типичность роста культур на жидких ПС определяли визуально и в мазках по Граму с использованием микроскопа Carl Zeiss Primo (Carl Zeiss, Германия).

В целях соблюдения требований биологической безопасности для гарантированного удаления бактериальных клеток, не подвергшихся лизису, осуществляли стерилизующую фильтрацию фаголизатов через стерилизующие капсулы с мембранным элементом на основе двуслойных полимерных мембран с размером пор 0,22 мкм (Sartorius, Германия) и постановку контроля специфической стерильности. Далее в эксперименте использовали специфически стерильные фагофильтраты.

Количество и активность фаговых частиц определяли методом агаровых слоев по Грациа. Контроль специфичности действия бактериофагов проводили по методу Фишера. Зону лизиса оценивали, в соответствии с инструкциями по применению бактериофагов, по шкале от 0 до 4 условных единиц (4-крестовая шкала), где 4 креста – полный, сливной лизис культуры с прозрачным дном литического пятна; 3 – прозрачное пятно с колониями вторичного роста или много изолированных литических пятен; 2 – полупрозрачное пятно или единичные изолированные пятна лизиса; 1 – слабо заметное пятно лизиса культуры; 0 – полное отсутствие зоны лизиса [8].

Лиофилизацию бактериофагов проводили на сублимационной сушильной установке Epsilon 2-6D (Martin Christ, Германия) в соответствии с производственной документацией на изготовление препаратов.

Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления средней ариф-

Таблица 1 / Table 1

Состав экспериментальных ПС на основе пептона из фибрина для накопления бактериофагов, специфичных к *Y. pestis*
Composition of experimental nutrient media based on fibrin peptone for the accumulation of bacteriophages specific to *Y. pestis*

Показатель / Parameter	Вариант питательной среды / Nutrient medium variant										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
pH	7,35										
Аминный азот, % Amine nitrogen, %	0,05	0,1	0,1	0,1	0,1	0,05	0,05	0,1	0,1	0,1	0,1
NaCl, %	0,3										
Na ₂ SO ₃ , %	0,025					-					
Na ₂ S ₂ O ₅ , %	-					0,005					
Мясной настоей, % Meat infusion, %	-	-	50	-	-	-	-	-	50	-	-
(NH ₄) ₂ HPO ₄ , %	-	-	-	0,05	-	-	-	-	-	0,05	-
Цистеин, % Cysteine, %	-	-	-	-	0,05	-	-	-	-	-	0,05
(NH ₄) ₂ MoO ₄ , %	-	-	-	-	-	-	0,05	-	-	-	-

метической и стандартной ошибки средней арифметической, используя t-критерий Стьюдента.

Результаты и обсуждение

Технология получения полуфабрикатов-фаголизатов состоит из двух этапов. На первом этапе происходит культивирование гомологичных культур бактерий-продуцентов. Следовательно, при конструировании ПС необходимо учитывать питательные потребности *Y. pestis* и *V. cholerae*, которым необходимо содержание как органических, так и неорганических соединений [4]. Второй этап заключается в накоплении специфичного бактериофага в культуральной среде после инфицирования бактериальных клеток, полученных на первом этапе. На этапе адсорбции бактериофага на поверхности клетки-хозяина и последующего его полноценного внутриклеточного развития в ПС необходимо наличие положительно заряженных ионов различных солей или любых поливалентных катионов [9–11]. Известно, что цистеин соединяет положительно заряженные ионы, что связано с наличием тиоловой группы (-SH) в его составе, которая позволяет цистеину взаимодействовать с ионами металлов и образовывать ионные связи [12, 13]. Использование цистеина в качестве кофактора при культивировании микроорганизмов [4] и источника поливалентных катионов обусловило его применение как одного из компонентов экспериментальных ПС. Для осуществления процедуры накопления бактериофагов упоминается и об использовании таких ПС, как мясопептонный бульон [14], который состоит из мясного настоя и пептона ферментативного. Использование мясопептонного бульона позволило при накоплении бактериофага БИМ BV-45 Д, специфичного в отношении *Pseudomonas helmanticensi*, получить высокий титр, не уступающий многокомпонентным ПС [14],

что вызвало наш интерес к использованию мясного настоя как одного из компонентов экспериментальных ПС. С учетом вышесказанного сконструированы 17 экспериментальных составов жидких ПС на основе пептона из фибрина (табл. 1, 2), которые использовали на этапе получения полуфабрикатов-фаголизатов в производстве препаратов для фагодиагностики чумы и холеры. Результаты культивирования *Y. pestis* и *V. cholerae cholerae* O1 и *V. cholerae* EI Tor O1 с последующим накоплением специфичных бактериофагов на экспериментальных ПС представлены в табл. 3 и 4.

Полученные данные позволяют констатировать следующее. При анализе ростовых свойств экспериментальных и контрольных жидких ПС отмечен типичный рост *Y. pestis* и *V. cholerae cholerae* O1 и *V. cholerae* EI Tor O1 во всех вариантах в течение процесса культивирования. Бульонные культуры

Таблица 2 / Table 2

Состав экспериментальных ПС на основе пептона из фибрина для накопления бактериофагов, специфичных к *V. cholerae cholerae* O1 и *V. cholerae* EI Tor O1

Composition of experimental nutrient media based on fibrin peptone for the accumulation of bacteriophages specific to *V. cholerae cholerae* O1 and *V. cholerae* EI Tor O1

Показатель Parameter	Вариант питательной среды Nutrient medium variant					
	1	2	3	4	5	6
pH	7,6					
Аминный азот, % Amine nitrogen, %	0,05	0,07	0,1	0,1	0,1	0,1
NaCl, %	0,5					
Мясной настоей, % Meat infusion, %	-	-	-	50	-	-
(NH ₄) ₂ HPO ₄ , %	-	-	-	-	0,05	-
Цистеин, % Cysteine, %	-	-	-	-	-	0,05

Таблица 3 / Table 3

Результаты культивирования *Y. pestis* с последующим накоплением специфичных бактериофагов на экспериментальных питательных средах (n=3)

Results of *Y. pestis* cultivation with subsequent accumulation of specific bacteriophages on experimental nutrient media (n=3)

Наименование Indicator	Вариант питательной среды / Nutrient medium variant					Контрольная ПС Control NM	
	1	2	3	4	5		
Накопление бактериофага Л-413С (штамм-продуцент <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ) Accumulation of bacteriophage L-413C (producer strain <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ)							
Концентрация <i>Y. pestis</i> EV, м.к./мл Concentration of <i>Y. pestis</i> EV, m.c./ml	$(2,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(2,2 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(2,20 \pm 0,18) \cdot 10^8$	$(2,50 \pm 0,26) \cdot 10^8$	$(5,00 \pm 0,25) \cdot 10^8$	$(2,50 \pm 0,19) \cdot 10^8$	
Концентрация бактериофага, БОЕ/мл Bacteriophage concentration, PFU/ml	$(1,00 \pm 0,17) \cdot 10^6$	$(2,00 \pm 0,15) \cdot 10^6$	$(8,00 \pm 0,12) \cdot 10^6$	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(1,00 \pm 0,13) \cdot 10^6$	$(5,00 \pm 0,15) \cdot 10^7$	
Концентрация бактериофага после лиофилизации, БОЕ/мл Bacteriophage concentration after lyophilization, PFU/ml	$(2,00 \pm 0,21) \cdot 10^4$	$(4,0 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(9 \pm 0,23) \cdot 10^4$	$(2,0 \pm 0,1) \cdot 10^5$	$(8,0 \pm 0,3) \cdot 10^3$	$(2,0 \pm 0,1) \cdot 10^5$	
Накопление бактериофага Покровской (штамм-продуцент <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ) Accumulation of bacteriophage Pokrovskaya (producer strain <i>Y. pestis</i> EV НИИЭГ)							
Концентрация <i>Y. pestis</i> EV, м.к./мл Concentration of <i>Y. pestis</i> EV, m.c./ml	6	7	8	9	10	11	$(2,3 \pm 0,1) \cdot 10^8$
	$(2,6 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(3,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(2,5 \pm 0,17) \cdot 10^8$	$(2,50 \pm 0,22) \cdot 10^8$	$(2,3 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(1,00 \pm 0,05) \cdot 10^9$	
Концентрация бактериофага, БОЕ/мл Bacteriophage concentration, PFU/ml	$(4,00 \pm 0,13) \cdot 10^9$	$(2,00 \pm 0,12) \cdot 10^9$	$(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^9$	$(1,00 \pm 0,19) \cdot 10^9$	$(5,00 \pm 0,15) \cdot 10^9$	$(4,00 \pm 0,18) \cdot 10^9$	$(2,40 \pm 0,15) \cdot 10^9$
Концентрация бактериофага после лиофилизации, БОЕ/мл Bacteriophage concentration after lyophilization, PFU/ml	$(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(2,00 \pm 0,23) \cdot 10^7$	$(1,00 \pm 0,25) \cdot 10^7$	$(2,00 \pm 0,27) \cdot 10^7$	$(4,00 \pm 0,12) \cdot 10^7$	$(5, \pm 0,14) \cdot 10^7$	$(3,50 \pm 0,17) \cdot 10^7$

Y. pestis имели рыхлый осадок с прозрачной надосадочной жидкостью. Бульонные культуры *V. cholerae cholerae* O1 и *V. cholerae* EI Tor O1 имели равномерное помутнение жидкой ПС и нежную пленку на поверхности. В мазках, окрашенных по Граму, обнаруживались грамтрицательные биполярно окрашенные палочки *Y. pestis* и, соответственно, грамтрицательные изогнутые палочки *V. cholerae cholerae* O1 и *V. cholerae* EI Tor O1.

Анализ данных табл. 3 дает возможность сделать следующие заключения. Значения показателей концентрации микроорганизмов по окончании культивирования штамма *Y. pestis* EV НИИЭГ были соизмеримыми и составляли более $2 \cdot 10^8$ м.к./мл во всех вариантах экспериментальных ПС, включая

контрольные (от $2 \cdot 10^8$ до $1 \cdot 10^9$ м.к./мл). Однако накопление бактериофага Л-413С, сопоставимое с результатом на контрольной ПС, наблюдалось только на экспериментальной ПС 4 и составило $1 \cdot 10^7$ БОЕ/мл. При накоплении бактериофага Покровской экспериментальные ПС 6, 10 и 11 показали лучшие результаты в сравнении с контрольной ПС.

Анализ результатов культивирования *V. cholerae cholerae* O1 и *V. cholerae* EI Tor O1 с последующим накоплением специфичных бактериофагов на экспериментальных питательных средах (табл. 4) дает основание говорить о следующем. Значения показателей концентрации микроорганизмов по окончании культивирования штамма *V. cholerae cholerae* O1 145 на экспериментальных ПС 1–3 и 5 составляли от

Таблица 4 / Table 4

Результаты культивирования *V. cholerae cholerae* O1 и *V. cholerae* El Tor O1 с последующим накоплением специфических бактериофагов на экспериментальных питательных средах (n=3)

Results of cultivation of *V. cholerae cholerae* O1 and *V. cholerae* El Tor O1 with subsequent accumulation of specific bacteriophages on experimental nutrient media (n=3)

Наименование Indicator	Вариант питательной среды / Nutrient medium variant						Контрольная ПС Control NM
	1	2	3	4	5	6	
Накопление бактериофага C (штамм-продуцент <i>V. cholerae cholerae</i> O1 145) Accumulation of bacteriophage C (producer strain <i>V. cholerae cholerae</i> O1 145)							
Концентрация <i>V. cholerae</i> O1 145, м.к./мл Concentration of <i>V. cholerae</i> O1 145, m.c./ml	$(4,0 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(6,00 \pm 0,15) \cdot 10^7$	$(7,00 \pm 0,12) \cdot 10^7$	$(2,00 \pm 0,14) \cdot 10^8$	$(3,0 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(2,00 \pm 0,14) \cdot 10^8$	$(2,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$
Концентрация бактериофага, БОЕ/мл Bacteriophage concentration, PFU/ml	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^9$	$(8,00 \pm 0,21) \cdot 10^8$	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^9$	$(1,5 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(8,00 \pm 0,17) \cdot 10^7$	$(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^9$	$(1,50 \pm 0,23) \cdot 10^8$
Концентрация бактериофага после лиофилизации, БОЕ/мл Bacteriophage concentration after lyophilization, PFU/ml	$(2 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(3,50 \pm 0,27) \cdot 10^6$	$(1,50 \pm 0,15) \cdot 10^7$	$(3,00 \pm 0,22) \cdot 10^7$	$(5,00 \pm 0,12) \cdot 10^6$	$(7,00 \pm 0,25) \cdot 10^7$	$(5,00 \pm 0,19) \cdot 10^7$
Накопление бактериофага XII (штамм-продуцент <i>V. cholerae</i> El Tor O1 75M) Accumulation of bacteriophage XII (producer strain <i>V. cholerae</i> El Tor O1 75M)							
Концентрация <i>V. cholerae</i> O1 75M, м.к./мл Concentration of <i>V. cholerae</i> O1 75M, m.c./ml	$(4,00 \pm 0,15) \cdot 10^7$	$(6,0 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(4,5 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(2,50 \pm 0,15) \cdot 10^8$	$(2,0 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(1,00 \pm 0,11) \cdot 10^8$	$(2,00 \pm 0,22) \cdot 10^8$
Концентрация бактериофага, БОЕ/мл Bacteriophage concentration, PFU/ml	$(1,5 \pm 0,2) \cdot 10^6$	$(3,50 \pm 0,17) \cdot 10^7$	$(2,00 \pm 0,17) \cdot 10^7$	$(6,2 \pm 0,3) \cdot 10^8$	$(3,0 \pm 0,3) \cdot 10^7$	$(5,0 \pm 0,2) \cdot 10^8$	$(3,00 \pm 0,17) \cdot 10^8$
Концентрация бактериофага после лиофилизации, БОЕ/мл Bacteriophage concentration after lyophilization, PFU/ml	$(5,0 \pm 0,3) \cdot 10^4$	$(2,0 \pm 0,3) \cdot 10^5$	$(3,5 \pm 0,2) \cdot 10^6$	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(2,00 \pm 0,23) \cdot 10^5$	$(4,0 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(2,0 \pm 0,1) \cdot 10^7$
Накопление бактериофага XV (штамм-продуцент <i>V. cholerae</i> El Tor O1 75M) Accumulation of bacteriophage XV (producer strain <i>V. cholerae</i> El Tor O1 75M)							
Концентрация <i>V. cholerae</i> O1 75M, м.к./мл Concentration of <i>V. cholerae</i> O1 75M, m.c./ml	$(5,0 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(5,0 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(5,2 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(3,00 \pm 0,17) \cdot 10^8$	$(2,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(2,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(2,50 \pm 0,21) \cdot 10^8$
Концентрация бактериофага, БОЕ/мл Bacteriophage concentration, PFU/ml	$(1,00 \pm 0,19) \cdot 10^6$	$(4,0 \pm 0,1) \cdot 10^7$	$(1,50 \pm 0,15) \cdot 10^7$	$(7,00 \pm 0,15) \cdot 10^8$	$(4,00 \pm 0,25) \cdot 10^7$	$(3, \pm 0,1) \cdot 10^8$	$(3,0 \pm 0,1) \cdot 10^8$
Концентрация бактериофага после лиофилизации, БОЕ/мл Bacteriophage concentration after lyophilization, PFU/ml	$(7,00 \pm 0,21) \cdot 10^4$	$(2,0 \pm 0,1) \cdot 10^5$	$(3,0 \pm 0,3) \cdot 10^5$	$(5,0 \pm 0,2) \cdot 10^7$	$(1,0 \pm 0,1) \cdot 10^6$	$(2,00 \pm 0,15) \cdot 10^7$	$(4,0 \pm 0,3) \cdot 10^7$

$3 \cdot 10^7$ до $7 \cdot 10^7$ м.к./мл, результаты культивирования на экспериментальных ПС 4, 6 и контрольной ПС были идентичными – $2 \cdot 10^8$ м.к./мл. Стоит отметить, что накопление холерного бактериофага С было выше на экспериментальных ПС 1–3, 6 и идентичным на экспериментальной ПС 4 и контрольной ПС. Значения показателей концентрации микроорганизмов по окончании культивирования штамма *V. cholerae* El Tor O1 75M на экспериментальной ПС 4 были выше других и составляли $2,5 \cdot 10^8$ – $3 \cdot 10^8$ м.к./мл, на экспериментальной ПС 5 и контрольной ПС рост холерного вибриона был равнозначным. Максимальное накопление холерных бактериофагов XII и XV отмечалось на экспериментальных ПС 4, 6, а на экспериментальных ПС 1–3 и 5 результаты были ниже, чем на контрольных ПС.

Технология производства фагодиагностических препаратов предполагает получение лиофилизированных стерильных фильтратов фаголизатов бульонных культур, содержащих взвесь частиц соответствующих бактериофагов. Поэтому на следующем этапе исследований экспериментальные серии специфически стерильных фагофильтратов подвергали сублимационному высушиванию. Свойства экспериментальных серий сухих препаратов оценивали в соответствии с требованиями производственной документации препаратов. Необходимо отметить, что минимальное количество фаговых частиц (одного из основных показателей качества) составляет для чумных бактериофагов: Л-413С – $1 \cdot 10^5$, Покровской – $1 \cdot 10^7$; для холерных бактериофагов: С – $1 \cdot 10^7$, XII – $1 \cdot 10^7$, XV – $1 \cdot 10^7$.

Внешний вид экспериментальных серий лиофилизированных препаратов чумных (Л-413С, Покровской) и холерных (С, XII и XV) бактериофагов существенно не отличался между собой и имел вид сухой массы от светло-желтого до светлорыжевого цвета. Остаточная влажность обезвоженных препаратов была практически одинаковой и составляла 0,5–1,2 %. Полученные экспериментальные серии лиофилизированных препаратов легко растворялись в воде очищенной в среднем в течение 30–60 с.

Исследование активности препаратов, полученных после лиофилизации (табл. 3, 4), показало снижение количества фаговых частиц в среднем на 1–2 порядка в сравнении с жидкими препаратами – фагофильтратами, при этом уменьшение зафиксировано как для бактериофагов, полученных на экспериментальных ПС, так и на контрольных. Исследование специфичности действия полученных экспериментальных серий диагностических препаратов показало, что все экспериментальные серии лиофилизированных чумных бактериофагов (Л-413С – в цельном виде; Покровской – в диагностическом рабочем титре) вызывали лизис контрольных штаммов *Y. pestis* и не лизировали штаммы *Y. pseudotuberculosis*. Экспериментальные серии лиофилизированных холерных бактериофагов (С, XII и

XV) в диагностическом рабочем титре лизировали контрольные штаммы *V. cholerae* O1 гомологичного биовара и не лизировали штаммы *V. cholerae* O1 гетерологичного биовара.

Таким образом, на основании результатов проведенных исследований оценена возможность применения пептона, изготовленного из отходов производства гетерологичного антирабического иммуноглобулина – фибрина, в качестве белковой основы ПС для изготовления препаратов для фагодиагностики чумы и холеры.

Лучшие результаты для реализации задачи накопления бактериофагов выявлены для следующих вариантов ПС на основе пептона из фибрина: для Л-413С и Покровской – ПС с содержанием 0,1 % аминного азота, 0,3 % NaCl, 0,025 % Na_2SO_3 или 0,005 % Na_2SO_5 и 0,05 % $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$; для С, XII и XV – ПС с содержанием 0,1 % аминного азота, 0,5 % NaCl и 0,05 % цистеина.

Исследования показали, что препараты для фагодиагностики чумы и холеры, полученные на ПС, изготовленных на основе пептона из фибрина с составами, указанными выше, соответствуют требованиям нормативной документации, предъявляемым к препаратам для фагодиагностики чумы и холеры (ТУ 9386-021-01898109-2008 «Бактериофаг диагностический чумной Покровской (П), лиофилизат для диагностических целей», ТУ 9386-020-01898109-2008 «Бактериофаг диагностический чумной Л-413С, лиофилизат для приготовления раствора для диагностических целей» и ТУ 8637-014-01898109-2007 «Бактериофаги диагностические холерные классический и эльтор, лиофилизат для диагностических целей»). Полученные данные позволяют сделать вывод о возможности применения пептона из фибрина в качестве альтернативной белковой основы ПС для серийного производства указанных выше МИ ИВД. Это снизит затраты на дорогостоящие белковые основы ПС, применяемые на данный момент на этапах изготовления препаратов для фагодиагностики чумы и холеры, и будет способствовать снижению объема утилизации отходов производства антирабического иммуноглобулина.

Работа выполнена по теме НИР 89-2-21 «Научно-прикладные аспекты производства и совершенствования препаратов для иммунопрофилактики и диагностики опасных бактериальных и вирусных инфекций» (2021–2025 гг.).

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

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

Список литературы

1. Кругликов В.Д., Гаевская Н.Е., Монахова Е.В., Москвитина Э.А., Агафонова В.В., Савина И.В., Подойницына О.А., Селянская Н.А., Водопьянов А.С., Дуванова О.В., Меньшикова Е.А., Ежова М.И., Шипко Е.С., Евтеев А.В.,

- Казмина В.С., Бодрая П.В., Сокиркина Е.Н. Анализ особенностей эпидемиологической ситуации по холере в 2024 г. в мире, в Российской Федерации и прогноз ее развития на 2025 г. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025; (1):35–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-35-47.
2. Попов Н.В., Карнаухова И.Г., Кузнецов А.А., Матросов А.Н., Иванова А.В., Марцоха К.С., Маггеррамов Ш.В., Поспелов М.В., Корзун В.М., Вержущий Д.Б., Чипанин Е.В., Холин А.В., Лопатин А.А., Дубянский В.М., Ашибокоев У.М., Газиева А.Ю., Кутырев И.В., Аязбаев Т.З., Бамматов Д.М., Балахонов С.В., Куличенко А.Н., Кутырев В.В. Эпидемиологическая обстановка по чуме в мире и прогноз ее развития на 2025 г. в Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2025; (1):74–83. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-74-83.
3. Государственный реестр медицинских изделий и организаций (индивидуальных предпринимателей), осуществляющих производство и изготовление медицинских изделий. [Электронный ресурс]. URL: <https://elk.roszdravnadzor.gov.ru/widget/> (дата обращения: 12.06.2025).
4. Дятлов И.А., Кутырев В.В., Храмов М.В. Питательные среды для выделения, культивирования и идентификации возбудителей особо опасных инфекций бактериальной природы. М.; 2012. 415 с.
5. Никифоров А.К., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В., Зинина О.С., Гумаюнова К.С., Синягина Ю.В. Применение тангенциальной ультрафильтрации в производстве диагностических бактериофагов. *Вестник биотехнологии и физико-химической биологии имени Ю.А. Овчинникова*. 2022; 18(3):8–13.
6. Ляпустина Л.В., Омелянчук П.А., Лямкин Г.И., Виланская С.В., Головнева С.И., Коготкова О.И., Будыка Д.А., Русанова Д.В., Куличенко А.Н. Совершенствование технологии производства бруселлезных диагностических бактериофагов. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2009; (3):69–72. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-3(101)-69-72.
7. Холматов К.И., Вахрушина Н.И., Антонычева М.В., Чалбушев М.М., Белоусов А.Д., Астафьева С.В., Гумаюнова К.С., Зинина О.С., Синягина Ю.В., Рогожин В.В., Максимова В.Н., Бенцлер В.А., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В. Способ получения основы питательных сред – пептона и питательная среда для накопления бактериофагов, специфичных к *Yersinia pestis* и *Vibrio cholerae*. Заявка на изобретение № 2023131500, опубл. 28.05.2025. Бюл. № 16.
8. Глазкова Е.А., Гумаюнова К.С., Комиссаров А.В., Овчинникова М.В. Исследование влияния различных энтеросорбентов на бактериофаг при конструировании комплексного препарата для лечения и профилактики холеры. В кн.: Зыкинские чтения: Материалы национальной научно-практической конференции, посвященной памяти докт. мед. наук, профессора Л.Ф. Зыкина. Саратов: ФГБОУ ВО Вавиловский университет; 2024. С. 48–52.
9. Bandara N., Jo J., Ryu S., Kim K.P. Bacteriophages BCP1-1 and BCP8-2 require divalent cations for efficient control of *Bacillus cereus* in fermented foods. *Food Microbiol.* 2012; 31(1):9–16. DOI: 10.1016/j.fm.2012.02.003.
10. Ma L., Green S.I., Trautner B.W., Ramig R.F., Maresso A.W. Metals enhance the killing of bacteria by bacteriophage in human blood. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):2326. DOI: 10.1038/s41598-018-20698-2.
11. Каттер Э., Сулаквелидзе А., редакторы. Бактериофаги: биология и практическое применение: пер. с англ. М.: Научный мир; 2012. 636 с.
12. Муфтахов М.В., Шукин П.В. Резонансный захват электронов молекулами цистеина и N-ацетилцистеина. *Журнал физической химии*. 2020; 94(1):89–97. DOI: 10.31857/S0044453720010240.
13. Чиркин А.А. Биохимия с основами генной инженерии: учебное пособие для студентов вузов по специальности «Биоэкология». Витебск: ВГУ им. П.М. Машерова; 2010. 182 с.
14. Pilipchuk T.A., Gerasimovich A.D., Ananyeva I.N., Kolomiets E.I. Optimization of process parameters for cultivation of bacteriophages promising for biological control of phytopathogenic bacteria of genus *Pseudomonas*. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2021; (3):28–40. DOI: 10.11134/btp.3.2021.3.
2. Popov N.V., Karnaukhov I.G., Kuznetsov A.A., Matrosov A.N., Ivanova A.V., Martsokha K.S., Magerramov Sh.V., Pospelov M.V., Korzun V.M., Verzhutsky D.B., Chipanin E.V., Kholin A.V., Lopatin A.A., Dubyansky V.M., Ashibokov U.M., Gazieva A.Yu., Kutyrev I.V., Ayazbaev T.Z., Bammатов D.M., Balakhonov S.V., Kulichenko A.N., Kutyrev V.V. [Epidemiological situation on plague in the world and forecast of its development for 2025 in the Russian Federation]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2025; (1):74–83. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-74-83.
3. [State Register of Medical Products and Organizations (Individual Entrepreneurs) Engaged in the Production and Manufacturing of Medical Products]. [Internet]. Available from: <https://elk.roszdravnadzor.gov.ru/widget/> (Cited: 12 June 2025).
4. Dyatlov I.A., Kutyrev V.V., Khranov M.V. [Nutrient Media for the Isolation, Cultivation, and Identification of Pathogens of Particularly Dangerous Bacterial Infections]. Moscow; 2012. 415 p.
5. Nikiforov A.K., Ovchinnikova M.V., Komissarov A.V., Zinina O.S., Gumayunova K.S., Sinyagina Yu.V. [Application of tangential ultrafiltration in the production of diagnostic bacteriophages]. *Vestnik Biotekhnologii i Fiziko-Khimicheskoy Biologii imeni Yu.A. Ovchinnikova [Yu.A. Ovchinnikov Bulletin of Biotechnology and Physicochemical Biology]*. 2022; 18(3):8–13.
6. Lyapustina L.V., Omel'yanchuk P.A., Lyamkin G.I., Vilinskaya S.V., Golovneva S.I., Kogotkova O.I., Budyka D.A., Rusanova D.V., Kulichenko A.N. [Improving the technology for the production of brucellosis diagnostic bacteriophages]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2009; (3):69–72. DOI: 10.21055/0370-1069-2009-3(101)-69-72.
7. Kholmatorov K.I., Vakhrushina N.I., Antonycheva M.V., Chalbushev M.M., Belousov A.D., Astafieva S.V., Gumayunova K.S., Zinina O.S., Sinyagina Yu.V., Rogozhin V.V., Maksimova V.N., Bentsler V.A., Ovchinnikova M.V., Komissarov A.V. [Method for obtaining a nutrient medium base – peptone and a nutrient medium for the accumulation of bacteriophages specific to *Yersinia pestis* and *Vibrio cholerae*]. Invention Application No. 2023131500, published 28 May 2025. Bull. № 16.
8. Glazkova E.A., Gumayunova K.S., Komissarov A.V., Ovchinnikova M.V. [Study of the effect of various enterosorbents on a bacteriophage in the design of a complex drug for the treatment and prevention of cholera]. In: [Zykin Readings: Proceedings of the National Scientific and Practical Conference Dedicated to the Memory of Doctor of Medical Sciences, Professor, L.F. Zykin]. Saratov: Vavilov University; 2024. P. 48–52.
9. Bandara N., Jo J., Ryu S., Kim K.P. Bacteriophages BCP1-1 and BCP8-2 require divalent cations for efficient control of *Bacillus cereus* in fermented foods. *Food Microbiol.* 2012; 31(1):9–16. DOI: 10.1016/j.fm.2012.02.003.
10. Ma L., Green S.I., Trautner B.W., Ramig R.F., Maresso A.W. Metals enhance the killing of bacteria by bacteriophage in human blood. *Sci. Rep.* 2018; 8(1):2326. DOI: 10.1038/s41598-018-20698-2.
11. Cutter E., Sulakvelidze A., editors. [Bacteriophages: Biology and Practical Applications]: trans. from English. Moscow: "Nauchny Mir"; 2012. 636 p.
12. Muftakhov M.V., Shchukin P.V. [Resonance electron capture by cysteine and N-acetylcysteine molecules]. *Zhurnal Fizicheskoy Khimii [Russian Journal of Physical Chemistry]*. 2020; 94(1):89–97. DOI: 10.31857/S0044453720010240.
13. Chirkin A.A. [Biochemistry with the Basics of Genetic Engineering: A Tutorial for University Students Majoring in Bioecology]. Vitebsk: Vitebsk State University named after P.M. Masherov; 2010. 182 p.
14. Pilipchuk T.A., Gerasimovich A.D., Ananyeva I.N., Kolomiets E.I. Optimization of process parameters for cultivation of bacteriophages promising for biological control of phytopathogenic bacteria of genus *Pseudomonas*. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*. 2021; (3):28–40. DOI: 10.11134/btp.3.2021.3.

References

1. Kruglikov V.D., Gaevskaya N.E., Monakhova E.V., Moskvitina E.A., Agafonova V.V., Savina I.V., Podoinitsyna O.A., Selyanskaya N.A., Vodop'yanov A.S., Duvanov O.V., Men'shikova E.A., Ezhova M.I., Shipko E.S., Evteev A.V., Kaz'mina V.S., Bodraya P.V., Sokirina E.N. [Analysis of the features of the epidemiological situation on cholera in the world, in the Russian Federation in 2024 and the forecast of its development for 2025]. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2025; (1):35–47. DOI: 10.21055/0370-1069-2025-1-35-47.

Authors:

Kholmatorov K.I., Vakhrushina N.I., Gumayunova K.S., Zinina O.S., Bentsler V.A., Astaf'eva S.V., Chalbushev M.M., Mal'kova A.A., Ovchinnikova M.V., Komissarov A.V., Abramova E.G. Russian Research Anti-Plague Institute "Microbe". 46, Universitetskaya St., Saratov, 410005, Russian Federation. E-mail: rusrap@microbe.ru.

Об авторах:

Холматов К.И., Вахрушина Н.И., Гумаюнова К.С., Зинина О.С., Бенцлер В.А., Астафьева С.В., Чалбушев М.М., Малькова А.А., Овчинникова М.В., Комиссаров А.В., Абрамова Е.Г. Российский научно-исследовательский противочумный институт «Микроб». Российская Федерация, 410005, Саратов, ул. Университетская, 46. E-mail: rusrap@microbe.ru.