

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Научная статья

УДК 578.819

1.5.11. Микробиология (медицинские науки)

<https://doi.org/10.17021/1992-6499-2026-2-68-75>

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *MYCOBACTERIUM SMEGMATIS* MC<sup>2</sup>155 ПРИ ОЦЕНКЕ АНТИМИКОБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

Гузель Наиленовна Генатуллина, Александра Александровна Цибизова,  
Анна Леонидовна Ясенявская, Сергей Викторович Поройский,  
Марина Александровна Самотруева, Марина Владимировна Лазько  
Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия

**Аннотация.** Рост лекарственной устойчивости микобактерий, включая нетуберкулёзные виды, определяет актуальность разработки новых подходов к терапии, среди которых перспективным направлением является фаготерапия. Однако эффективность антимикобактериальных агентов существенно зависит от условий культивирования, что делает выбор оптимальной питательной среды и надёжной модельной культуры (*Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155) критически важным для корректной оценки активности и разработки эффективных препаратов. **Цель исследования** – сравнительная оценка эффективности питательных сред для культивирования референс-штамма *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 и обеспечения антимикобактериального эффекта. **Материалы и методы.** В работе использовали референс-штамм *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155. Посевы проводили на жидкие среды (Middlebrook 7H9 с добавлением 10 % комплексной обогащающей добавки, содержащей олеиновую кислоту, альбумин, декстрозу и каталазу, и Tween 80, среда Школьниковой, среда Сотона, модифицированная среда со сниженным содержанием солей, обогащённая глюкозой и дрожжевым экстрактом). В качестве стандартизированного индикатора литической активности использовали лизат бактериофага, полученный из образца компоста методом обогащения на культуре *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155. Титр фагового лизата составил  $3,7 \cdot 10^7$  БОЕ/мл. Оценку антимикобактериального эффекта проводили путем внесения в пробирки с 5 мл соответствующей среды 0,25 мл бактериальной культуры *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 (конечная концентрация  $3,7 \cdot 10^8$  КОЕ/мл) и 0,25 мл фагового лизата. **Результаты исследования.** На среде Middlebrook 7H9 и модифицированном бульоне с добавлением фагового лизата уже через 4 ч отмечали снижение оптической плотности, которое прогрессировало к 48 часам ( $0,009 \pm 0,028$ ); в обеих средах выявлена гетерогенность ответа: в 9 из 10 повторностей оптическая плотность уменьшалась до 0,008–0,009, а в одной повторности оставалась высокой (0,080–0,107), выживание субпопуляции клеток, потенциально обусловленное формированием персистеров или переходом в состояние псевдолизогении. В то же время на средах Школьниковой и Сотона значимого снижения оптической плотности не зафиксировано (оптическая плотность оставалась на уровне 0,168–0,237). Статистический анализ подтвердил отсутствие значимых различий между Middlebrook 7H9 и модифицированным бульоном ( $p = 0,92$ ), при этом обе среды достоверно превосходили Школьникову и Сотона ( $p < 0,001$ ). **Заключение.** Таким образом, модифицированный бульон не уступает по способности поддерживать антимикобактериальный эффект коммерческой среде Middlebrook 7H9 ( $p > 0,05$ ) и может служить экономически доступной альтернативой для фаговых исследований. Полученные результаты обосновывают необходимость стандартизации питательных сред при оценке антимикобактериальной активности и открывают возможности для оптимизации протоколов скрининга.

**Ключевые слова:** *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155, питательные среды, культивирование, антимикобактериальная активность, фаговый скрининг, импортозамещение

**Для цитирования:** Генатуллина Г. Н., Цибизова А. А., Ясенявская А. Л., Поройский С. В., Самотруева М. А., Лазько М. В. Сравнительная оценка питательных сред для культивирования *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155 при оценке антимикобактериальной активности // Астраханский медицинский журнал. 2026. Т. 21, № 2. С. 68–75. <https://doi.org/10.17021/1992-6499-2026-2-68-75>.

# COMPARATIVE EVALUATION OF CULTURE MEDIA FOR CULTIVATION OF MYCOBACTERIUM SMEGMATIS MC<sup>2</sup>155 IN THE ASSESSMENT OF ANTIMYCOBACTERIAL ACTIVITY

Guzel N. Genatullina, Alexandra A. Tsibizova,  
Anna L. Yasenyavskaya, Sergey V. Poroyskiy,  
Marina A. Samotrueva, Marina V. Lazko  
Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia

**Abstract.** The growing prevalence of drug-resistant mycobacteria, including non-tuberculous species, highlights the urgent need for novel therapeutic approaches, among which phage therapy represents a promising strategy. However, the efficacy of antimycobacterial agents is critically dependent on cultivation conditions, making the choice of an optimal culture medium and a reliable model strain (*Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155) essential for accurate activity assessment and the development of effective therapeutics. **The aim of the study** was to conduct a comparative evaluation of the efficacy of culture media for cultivation of the reference strain *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155 and for maintaining antimycobacterial activity. **Materials and methods.** The reference strain *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155 was used in this study. Inoculations were performed on liquid media: Middlebrook 7H9 supplemented with 10% oleic acid–albumin–dextrose–catalase enrichment and Tween 80, Shkolnikova medium, Sauton's medium, and a modified medium with reduced salt content enriched with glucose and yeast extract. A bacteriophage lysate obtained from a compost sample by enrichment culture on *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 was used as a standardized indicator of lytic activity. The phage lysate titer was  $3.7 \cdot 10^7$  plaque-forming units per milliliter. Antimycobacterial activity was assessed by adding 0.25 mL of bacterial culture of *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 (final concentration  $3.7 \cdot 10^8$  colony-forming units per milliliter) and 0.25 mL of phage lysate to tubes containing 5 mL of the corresponding medium. **Results.** In Middlebrook 7H9 and modified broth supplemented with phage lysate, a decrease in optical density was observed as early as 4 hours, progressing by 48 hours ( $0.009 \pm 0.028$ ). Both media demonstrated a heterogeneous response: in 9 out of 10 replicates, optical density decreased to 0.008–0.009, while in one replicate it remained high (0.080–0.107), indicating the survival of a cell subpopulation, potentially attributable to persister formation or transition to pseudolysogeny. By contrast, no significant decrease in optical density was recorded in Shkolnikova and Sauton's media (optical density remained at 0.168–0.237). Statistical analysis confirmed no significant differences between Middlebrook 7H9 and modified broth ( $p = 0.92$ ), while both media significantly outperformed Shkolnikova and Sauton's media ( $p < 0.001$ ). **Conclusion.** The modified broth is not inferior to the commercial Middlebrook 7H9 medium in supporting antimycobacterial activity ( $p > 0.05$ ) and may serve as a cost-effective alternative for phage research. These findings underscore the need for standardization of culture media in antimycobacterial activity evaluation and open up opportunities for optimizing screening protocols.

**Key words:** *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155, culture media, cultivation, antimycobacterial activity, phage screening, import substitution

**For citation:** Genatullina G. N., Tsibizova A. A., Yasenyavskaya A. L., Poroyskiy S. V., Samotrueva M. A., Lazko M. V. Comparative evaluation of culture media for cultivation of *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155 in the assessment of antimycobacterial activity. Astrakhan Medical Journal. 2026; 21 (2): 68–75. <https://doi.org/10.17021/1992-6499-2026-2-68-75> (In Russ.).

**Введение.** Современное состояние проблемы лекарственной резистентности микобактерий, включая нетуберкулезные виды, частота встречаемости которых за последние десятилетия возросла в несколько раз, определяет актуальность разработки новых подходов к терапии заболеваний, вызываемых возбудителями данного рода [1–3]. Перспективным направлением является фаготерапия, основанная на использовании микобактериофагов и их продуктов (например, лизинов) как в изолированном виде, так и в составе синергетических комбинаций с антибиотиками. Такая терапия способна влиять на жизненный цикл микобактерий, обеспечивая лизис бактериальных клеток или индуцируя мутации в геноме возбудителя, что приводит к нарушению его репликации [4–6].

Ключевым ограничением для широкого терапевтического применения антимикобактериальных агентов (включая фаги) остаётся вариабельность их литической активности, которая в значительной степени обусловлена условиями культивирования бактерий-мишеней. Состав питательной среды прямо влияет на физиологическое состояние бактериальной клетки, определяя такие параметры, как скорость роста, уровень метаболической активности и характер экспрессии поверхностных рецепторов. В конечном счёте это воздействует на эффективность взаимодействия антимикобактериального

агента с клеткой-мишенью. Следовательно, скрининг антимикобактериальной активности, проводимый без учёта влияния питательной среды, несёт высокий риск получения ложноотрицательных результатов. Это, в свою очередь, может препятствовать идентификации и отбору наиболее перспективных кандидатов для дальнейшего терапевтического применения. Указанные методологические сложности могут быть частично нивелированы путём детального изучения структурных и физиологических особенностей различных представителей рода *Mycobacterium*, что необходимо для создания эффективных микобактериофагов. В настоящее время в качестве идеальной модельной бактерии для исследований, касающихся не только *Mycobacterium tuberculosis*, но и других видов микобактерий, а также родственных таксонов, выступает непатогенный и быстрорастущий вид *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155. Выбор данного организма обусловлен быстрым ростом и отсутствием профагов (нелизогенный статус), что подтверждено спецификацией консервативности генетического материала, сходством клеточной архитектуры и физиологии с патогенными видами [7, 8]. Указанные характеристики позволили использовать *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 в качестве клетки-хозяина для выделения и накопления микобактериофагов, которые могут применяться в диагностических и терапевтических целях. Это открывает новые перспективы в борьбе с микобактериальными инфекциями, устойчивыми к антибиотикотерапии [9–11].

**Целью исследования** явилась сравнительная оценка четырёх жидких питательных сред по способности поддерживать рост *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 и обеспечивать проявление антимикобактериального эффекта.

**Материалы и методы.** В работе использовали референс-штамм *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 (Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почётного академика Н. Ф. Гамалеи» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Москва). Бактерии поддерживали на агаре Middlebrook 7H10 при 37 °С. Для экспериментов готовили свежую бульонную культуру в среде Middlebrook 7H9, инкубируя при 37 °С до достижения оптической плотности при длине волны 600 нм 0,3–0,5, что соответствует логарифмической фазе роста.

Использовали следующие жидкие среды: бульон Middlebrook 7H9 с добавлением 10 % комплексной обогащающей добавки, содержащей олеиновую кислоту, альбумин, декстрозу и каталазу (OADC) и 0,1 % Tween-80; среда Школьниковой (состав: asparagine 5,0 г; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,5 г; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,5 г; цитрат железа 0,05 г; глицерин 20 мл; дистиллированная вода до 1 л; pH 7,2–7,4); среда Сотона (состав: asparagine 4,0 г; глицерин 60 мл; лимонная кислота 2,0 г; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,5 г; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,5 г; NH<sub>4</sub>Cl 0,5 г; вода до 1 л; pH 7,0–7,2); опытный (модифицированный) бульон: сниженное содержание солей (50 % от стандартной среды Сотона), обогащённый глюкозой (20 г/л) и дрожжевым экстрактом (10 г/л). Все среды стерилизовали автоклавированием при 121 °С 15 мин с последующим контролем pH.

В качестве стандартизированного индикатора литической активности использовали лизат бактериофага, полученный из образца компоста методом обогащения на культуре *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155. Титр фагового лизата составил 3,7·10<sup>7</sup> БОЕ/мл (определён методом двойного агарового слоя). Молекулярная идентификация фага не указана в рамках настоящей работы, поскольку его функция ограничивалась ролью тестового биологического агента.

**Оценка антимикобактериального эффекта.** Для каждого варианта среды готовили по 10 биологических повторностей ( $n = 10$ ). В пробирки с 5 мл соответствующей среды вносили 0,25 мл бактериальной культуры *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 (конечная концентрация 3,7·10<sup>8</sup> КОЕ/мл) и 0,25 мл фагового лизата (титр 3,7·10<sup>7</sup> БОЕ/мл). Для валидации полученных результатов и минимизации артефактов в работе была предусмотрена следующая система контролей: первая – контроль стерильности питательной среды: инкубация стерильной среды без внесения бактериальной культуры и фага для исключения её контаминации; вторая – контроль роста бактериальной культуры (отрицательный контроль) – культура бактерий в среде без добавления фагового фильтрата; третья – контроль стерильности фагового лизата – лизат в стерильной среде без бактериальной культуры для исключения роста контаминантов. Все образцы инкубировали при 37 °С. Оптическую плотность (OD) при длине волны 600 нм измеряли каждые 4 ч в течение 48 ч с использованием спектрофотометра ПЭ-5400В (ООО «Экротех», Россия). Для каждого временного интервала регистрировали среднее значение и стандартное отклонение по 10 повторностям.

**Статистический анализ.** Данные представлены как среднее ± стандартное отклонение (SD). Перед выбором метода сравнения был проведён анализ распределения данных. Нормальность распределения количественных признаков оценивали с помощью критерия Шапиро – Уилка. Равенство (гомогенность) дисперсий в сравниваемых группах проверяли с помощью критерия Левена. Алгоритм выбора статистического теста: для сравнения четырёх независимых групп использовали

непараметрический критерий Краскела – Уоллиса с post-hoc критерием Данна (поправка Бонферрони). Критический уровень значимости –  $p < 0,05$ .

**Результаты и их обсуждение.** Одной из ключевых задач данного исследования стал подбор альтернативной рецептуры питательных сред, предназначенных для выращивания микобактерий и их фагов в условиях текущего дефицита зарубежных расходных материалов и чрезмерно высокой стоимости коммерческих добавок. Согласно имеющимся данным, сегодня до 90 % ингредиентов для микробиологических питательных сред в России закупается за рубежом. Целью оптимизации было получение состава, не уступающего по своим свойствам общепринятому стандарту (бульон Middlebrook 7H9), но при этом более бюджетного, что приобретает особую актуальность в свете действующих санкций [12].

Исследование антимикобактериальной активности фагового лизата в отношении *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 проводили на четырёх жидких средах. В контрольных пробирках (без фильтрата) наблюдали закономерный рост культуры: OD<sub>600</sub> увеличивалась с  $0,258 \pm 0,002$  до  $0,896 \pm 0,002$  через 48 ч (табл. 1).

Таблица 1. Средние значения оптической плотности питательной среды с бактериальной культурой *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155  
Table 1. Average values of the optical density of a nutrient medium with a bacterial culture of *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155

| Время, ч                                                                                                                                                                                                               | Контроль<br>(без фильтрата) | Middlebrook +<br>фильтрат | Школьниковая +<br>фильтрат | Сотона +<br>фильтрат | Опытный +<br>фильтрат |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------|-----------------------|
| 0                                                                                                                                                                                                                      | $0,258 \pm 0,002$           | $0,255 \pm 0,002$         | $0,257 \pm 0,002$          | $0,254 \pm 0,002$    | $0,256 \pm 0,002$     |
| 4                                                                                                                                                                                                                      | $0,406 \pm 0,002$           | $0,256 \pm 0,004$         | $0,258 \pm 0,002$          | $0,255 \pm 0,002$    | $0,258 \pm 0,003$     |
| 8                                                                                                                                                                                                                      | $0,448 \pm 0,002$           | $0,220 \pm 0,003$         | $0,256 \pm 0,002$          | $0,242 \pm 0,002$    | $0,213 \pm 0,003$     |
| 16                                                                                                                                                                                                                     | $0,510 \pm 0,002$           | $0,211 \pm 0,003$         | $0,261 \pm 0,002$          | $0,237 \pm 0,002$    | $0,203 \pm 0,002$     |
| 20                                                                                                                                                                                                                     | $0,555 \pm 0,002$           | $0,183 \pm 0,002$         | $0,256 \pm 0,002$          | $0,213 \pm 0,002$    | $0,157 \pm 0,003$     |
| 24                                                                                                                                                                                                                     | $0,605 \pm 0,002$           | $0,157 \pm 0,003$         | $0,262 \pm 0,002$          | $0,198 \pm 0,002$    | $0,134 \pm 0,003$     |
| 28                                                                                                                                                                                                                     | $0,683 \pm 0,002$           | $0,137 \pm 0,003$         | $0,253 \pm 0,002$          | $0,192 \pm 0,002$    | $0,126 \pm 0,003$     |
| 32                                                                                                                                                                                                                     | $0,713 \pm 0,002$           | $0,128 \pm 0,002$         | $0,254 \pm 0,002$          | $0,186 \pm 0,002$    | $0,112 \pm 0,003$     |
| 36                                                                                                                                                                                                                     | $0,793 \pm 0,002$           | $0,113 \pm 0,003$         | $0,255 \pm 0,002$          | $0,182 \pm 0,002$    | $0,106 \pm 0,003$     |
| 40                                                                                                                                                                                                                     | $0,853 \pm 0,002$           | $0,093 \pm 0,084^*$       | $0,246 \pm 0,002$          | $0,176 \pm 0,002$    | $0,097 \pm 0,093^*$   |
| 48                                                                                                                                                                                                                     | $0,896 \pm 0,002$           | $0,033 \pm 0,084^*$       | $0,237 \pm 0,012$          | $0,168 \pm 0,011$    | $0,028 \pm 0,091^*$   |
| Примечание: SD – среднее $\pm$ стандартное отклонение; * – высокое SD обусловлено наличием одной повторности с сохранением роста (OD > 0,260).<br>Note: SD – is the average $\pm$ standard deviation; * – the high SD. |                             |                           |                            |                      |                       |

На среде Middlebrook 7H9 с добавлением фага уже через 4 ч отмечали снижение OD, которое прогрессировало к 48 ч ( $0,009 \pm 0,088$ ). Аналогичная картина зафиксирована на опытном бульоне ( $0,008 \pm 0,091$ ). При этом в обеих средах выявлена гетерогенность ответа: в 9 из 10 повторностей OD падала до  $0,008-0,009$ , а в одной повторности оставалась высокой ( $0,260-0,270$ ). Сохранение роста в единичной повторности может быть обусловлено формированием персистеров – физиологически неактивных клеток, временно устойчивых к фаговой инфекции, переходом части популяции в состояние псевдолизогении (неинтегрированное состояние фага без активной репликации), либо присутствием примеси умеренного фага в исходном лизате. Окончательное заключение о механизме выживания требует дополнительных молекулярно-генетических исследований (ПЦР на профаг, секвенирование генома выживших клонов) (табл. 2). В то же время на средах Школьниковой и Сотона добавление фагосодержащего фильтрата вызывало снижение OD незначительно: OD через 48 ч составляла  $0,237 \pm 0,012$  и  $0,168 \pm 0,011$  соответственно, что существенно выше, чем на богатых средах, и свидетельствует об отсутствии полноценного антимикобактериального эффекта. Более низкая OD на среде Сотона по сравнению со средой Школьниковой объясняется, вероятнее всего, дефицитом фосфора и железа при избытке глицерина. Среда Сотона не является «более бедной» в классическом смысле – она содержит много глицерина, но лимитирована по ключевым микроэлементам. Важно отметить гетерогенность ответа на средах Middlebrook и опытной: в 9 из 10 повторностей OD падала до  $0,008-0,009$  (полный лизис), а в одной повторности оставалась на уровне  $0,080-0,107$ . На средах Школьниковой и Сотона во всех 10 повторностях лизиса не происходило (OD не достигала значений  $< 0,15$ ).

Таблица 2. Частота антимикобактериального эффекта (лизиса) бактериальной культуры *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155 через 48 ч

Table 2. Lysis rate of *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155 bacterial culture after 48 hours

| Среда           | Количество культур с оптической плотностью (OD) < 0,15 (полный эффект) | Количество культур с оптической плотностью (OD) > 0,5 (сохранение роста) | Эффективность, % |
|-----------------|------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------------|
| Middlebrook 7H9 | 9                                                                      | 1                                                                        | 90               |
| Опытный бульон  | 9                                                                      | 1                                                                        | 90               |
| Школьниковая    | 0                                                                      | 0                                                                        | 0                |
| Сотона          | 0                                                                      | 0                                                                        | 0                |

Примечание: критерием полного лизиса принято снижение OD < 0,15 (соответствует значениям в лизированных образцах на богатых средах). На средах Школьниковой и Сотона все 10 повторностей имели OD в диапазоне 0,15–0,5 (среднее 0,237 и 0,168 соответственно); эффективность лизиса принята как 0 %.

Note: the criterion for complete lysis is a decrease in OD < 0.15 (corresponds to the values in lysed samples on rich media). On the Shkolnikova and Sotona media, all 10 repeats had an OD in the range of 0.15–0.5 (average 0.237 and 0.168, respectively); the lysis efficiency is assumed to be 0 %.

Сравнительный анализ сред. Критерий Краскела – Уоллиса выявил высокосignимые различия между средами ( $H = 32,4$ ,  $df = 3$ ,  $p < 0,0001$ ). Post-hoc анализ показал, что OD<sub>600</sub> на средах Middlebrook и опытном достоверно ниже, чем на средах Школьниковой и Сотона ( $p < 0,001$ ). Различия между Middlebrook и опытным бульоном отсутствовали ( $p = 0,92$ ), равно как и между средами Школьниковой и Сотона ( $p = 0,18$ ).

Установлено, что антимикобактериальный эффект фагового лизата в тестах на референс-штамме *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 определяется, главным образом, составом питательной среды. При использовании богатых сред (Middlebrook 7H9 и модифицированного бульона) в подавляющем большинстве повторов (9 из 10) зафиксировано снижение оптической плотности с 0,255 до 0,008–0,003. В сравнительном аспекте с синтетическими средами (Школьниковая и Сотона) оптическая плотность практически не изменялась (0,168–0,237), что указывает на отсутствие выраженного антимикобактериального действия в данных условиях.

Наблюдаемые различия в антимикобактериальной эффективности фагового лизата, предположительно, имеют комплексную природу и могут быть объяснены несколькими факторами. Ключевым из них является физиологическое состояние бактериальной популяции, которое, в свою очередь, зависит от состава питательной среды. В опытах на обогащённых средах (Middlebrook 7H9 с OADC и модифицированный бульон), в которых зафиксировано наиболее выраженное снижение оптической плотности, клетки *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155 характеризуются интенсивной скоростью деления и активным метаболизмом. Высокая скорость метаболизма, характерная для клеток в данных условиях, создаёт предпосылки для эффективной адсорбции фага (за счёт экспрессии рецепторов) и его последующей репликации (благодаря наличию достаточного количества метаболитических субстратов), что приводит к лизису бактериальной популяции. На синтетических средах (Школьниковая, Сотона), напротив, скорость роста заметно ниже, что, вероятно, ограничивает как доступность рецепторов, так и внутриклеточные ресурсы для сборки новых вирионов. Это предположение подтверждается количественными данными: через 48 ч инкубации оптическая плотность на средах Школьниковой и Сотона составила 0,237 и 0,168 соответственно, что существенно ниже контроля роста на Middlebrook (OD 0,896), но значительно выше значений, зафиксированных в пробах с полным лизисом (0,008–0,003). Такая картина указывает на то, что бактерии сохраняли жизнеспособность, но их плотность оставалась недостаточной для поддержания продуктивной фаговой инфекции. В условиях ограниченного метаболизма фаг, возможно, переходит в состояние псевдолизогении – латентную форму, при которой вирусный геном присутствует в клетке, но не реплицируется, сохраняя способность к реактивации при улучшении условий роста [13].

Другой аспект, требующий внимания, – это неоднородность ответа бактериальной популяции даже в условиях богатых сред. В одном из десяти повторных экспериментов на Middlebrook 7H9 и на модифицированном бульоне OD не снижалась ниже 0,260–0,270, что говорит о выживании определённой доли клеток. Наиболее вероятным объяснением этого феномена служит образование персистеров – клеток с пониженной метаболической активностью, которые временно устойчивы к фаговому воздействию. Следует отметить, что использование штамма *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155, лишённого профагов, является оправданным для изучения именно таких индуцированных состояний. В литературе

имеются данные, согласно которым у *M. smegmatis* системы «токсин – антитоксин» (например, MazEF и RelBE) участвуют в формировании персистентных клеток и обеспечивают защиту от фагов в стрессовых условиях [14]. Активация этих систем под действием стрессоров (включая фаговую инфекцию) переводит часть клеток в состояние покоя, что обеспечивает выживание субпопуляции. В нашем исследовании доля выживших клеток составляла около 10 % и практически не различалась между двумя богатыми средами, что позволяет предположить стохастическую природу процесса, не зависящую от конкретного состава питательной смеси.

Полученные данные определяют ряд практических рекомендаций для лабораторного скрининга антимикобактериальных агентов (включая бактериофаги). В качестве питательной основы предпочтительно использовать среды, обеспечивающие высокий уровень метаболической активности тест-культуры, к числу таких сред относятся коммерческий Middlebrook 7H9 и разработанный модифицированный бульон. При этом модифицированный бульон обладает дополнительным преимуществом: его себестоимость существенно ниже за счёт отсутствия дорогостоящего компонента OADC, при этом эффективность сопоставима со средой Middlebrook. Напротив, использование сред Школьниковой и Сотона для целей фагового скрининга не рекомендуется – в условиях проведённого эксперимента литическая активность на данных средах не зафиксирована. Указанные обстоятельства должны учитываться при стандартизации протоколов оценки антимикобактериального действия.

Ограничением исследования является использование только одного фагового лизата и одного референс-штамма *M. smegmatis* mc<sup>2</sup>155. Необходимо проверить воспроизводимость полученных закономерностей на других видах микобактерий (включая клинические изоляты) и с другими антимикобактериальными агентами. Для окончательного заключения о механизмах выживания клеток необходимы дополнительные молекулярно-генетические исследования.

**Заключение.** Проведённая сравнительная оценка четырёх жидких питательных сред для культивирования *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155 выявила существенную зависимость эффективности антимикобактериальной активности от состава питательной среды. Установлено, что среда Middlebrook 7H9 и разработанный модифицированный бульон обеспечивают максимальный рост бактерий и наиболее полную реализацию антимикобактериального потенциала тестового бактериофага – полное снижение оптической плотности зафиксировано в 90 % повторностей (оптическая плотность < 0,15 через 48 ч). В отличие от них, на среде Школьниковой и среде Сотона антимикобактериальная активность фагового лизата не регистрировалась ни в одном случае, что, вероятно, связано с недостаточностью питательных веществ, необходимых для экспрессии фаговых рецепторов и эффективной репликации фага. Полученные результаты подчёркивают необходимость обязательного учёта питательной среды при скрининге и сравнительной оценке антимикобактериальной активности. Скрининг, осуществляемый без учёта влияния питательной среды, сопряжён с высоким риском получения ложноотрицательных результатов и неверного отбора антимикобактериальных кандидатов. В более широком контексте проведённое исследование создаёт основу для стандартизации протоколов изучения взаимодействия микобактериофагов с бактерией-хозяином, а также открывает возможности для направленного поиска антимикобактериальных агентов, включая бактериофаги, перспективных для фаготерапии инфекций, вызванных антибиотикорезистентными штаммами микобактерий.

**Раскрытие информации.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Disclosure.** The authors declare that they have no competing interests.

**Вклад авторов.** Авторы декларируют соответствие своего авторства международным критериям ICMJE. Все авторы в равной степени участвовали в подготовке публикации: разработка концепции статьи, получение и анализ фактических данных, написание и редактирование текста статьи, проверка и утверждение текста статьи.

**Authors' contribution.** The authors declare the compliance of their authorship according to the international ICMJE criteria. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства здравоохранения РФ в части проведения НИР по теме «Разработка фагосодержащего лекарственного препарата для лечения нетуберкулезных микобактериозов».

**Funding source.** The work was performed within the framework of the state assignment of the Ministry of Health of the Russian Federation regarding research on the topic “Development of a phage-containing drug for the treatment of non-tuberculous mycobacteriosis”.

### Список источников

1. Honda J. R. Environmental sources and transmission routes of non-tuberculosis mycobacteria in the environment // *Clinics in Chest Medicine*. 2023. No. 44. P. 661–674. doi: 10.1016/j.clcm.2023.08.002.
2. Богущ Л. С., Слизень В. В., Давидовская Е. И., Иванова А. Л., Николенько Е. Н., Суркова Л. К. Нетуберкулезные микобактерии: проблема лекарственной резистентности в лечении пациентов с микобактериозом легких // *Клиническая инфектология и паразитология*. 2024. Т. 13, № 2. С. 156. doi: 10.34883/PI.2025.28.4.006.
3. Литвинов В. И. Нетуберкулезные микобактерии, микобактериозы // *Вестник Центрального научно-исследовательского института туберкулеза*. 2018. № 2. С. 5–20. doi: 10.7868/S2587667818020012.
4. Zeynali kelishomi F., Khanjani S., Fardsanei F., Saghi Sarabi H., Nikkhahi F., Dehghani B. Bacteriophages of *Mycobacterium tuberculosis*, their diversity, and potential therapeutic uses: a review // *BMC Infectious Diseases*. 2022. Vol. 22, no. 1. P. 957. doi: 10.1186/s12879-022-07944-9.
5. Зими́на В. Н., Дегтярева С. Ю., Белобородова Е. Н., Кулабухова Е. И., Русакова Л. И., Фесенко О. В. Микобактериозы: современное состояние проблемы // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017. Т. 19, № 4. С. 276–282.
6. Люкшин Д. В., Бородулина Е. А., Вдовина Д. В., Зайцева О. А. Нетуберкулезные микобактериозы легких: проблемы диагностики и лечения // *Врач*. 2023. Т. 34, № 8. С. 33–39.
7. Bonacorsi A., Ferretti K., Di Luca M., Rindi L. Mycobacteriophages and their use // *Antibiotics*. 2024. Vol. 13, no. 10. P. 926. doi: 10.3390/antibiotics13100926.
8. Зайчикова М. В., Авдеев В. В., Кузнецова С. М., Малахова М. В., Шитиков Е. А. Биологическое разнообразие и перспективы терапевтического и диагностического применения микобактериофагов в Российской Федерации // *Инфекция и иммунитет*. 2026. Т. 16, № 1. С. 9–24. doi: 10.15789/2220-7619-BDA-18100.
9. Sparks I. L., Derbyshire K. M., Jacobs W. R. Jr., Morita Y. S. *Mycobacterium smegmatis*: the vanguard of mycobacteriological research // *Journal of Bacteriology*. 2023. Vol. 205, no. 1. P. e0033722. doi: 10.1128/jb.00337-22.
10. Hosseinipurham S., Sechi L. A. An overview of mycobacteriophages: from classification to application // *Pathogens*. 2022. Vol. 11, no. 7. P. 777. doi: 10.3390/pathogens11070777.
11. Kropinski A. M., Mazzocco A., Waddell T. E., Lingohr E., Johnson R. P. Enumeration of bacteriophages by the double agar overlay plaque assay // *Bacteriophages: Methods and Protocols*. 2009. Vol. 501. P. 69–76. doi: 10.1007/978-1-60327-164-6\_7.
12. Жирнов В. А., Нетесов С. В. Импортзамещение в биологической науке и биотехнологии // *Вопросы вирусологии*. 2022. Т. 67, № 1. С. 7–12. doi: 10.36233/0507-4088-2022-67-1-7-12.
13. Guan J., Ibarra D., Tseng L. The role of lateral tail fibers in the infection cycle of the lambda phage // *Virology*. 2019. № 527. P. 57–63. doi: 10.1016/j.virol.2018.11.005.
14. Olszak T., Latka A., Roszniowski B., Valvano M. A., Drulis-Kawa Z. Phage life cycles behind bacterial biodiversity // *Current medicinal chemistry*. 2017. Vol. 24, no. 36. P. 3987–4001. doi: 10.2174/0929867324666170413100136.

### References

1. Honda J. R. Sources and transmission routes of non-tuberculosis mycobacteria in the environment. *Clinics in Chest Medicine*. 2023; 44: 661–674. doi: 10.1016/j.clcm.2023.08.002.
2. Bogush L. S., Slizen V. V., Davidovskaya E. I., Ivanova A. L., Nikolenko E. N., Surkova L. K. Non-tuberculous mycobacteria: the problem of drug resistance in the treatment of patients with pulmonary mycobacteriosis. *Klinicheskaya infektologiya i parazitologiya = Clinical infectology and parasitology*. 2024; 13 (2): 156. doi: 10.34883/PI.2025.28.4.006 (In Russ.).
3. Litvinov V. I. Non-tuberculous mycobacteria, mycobacteriosis. *Vestnik Tsentralnogo nauchno-issledovatel'skogo instituta tuberkuleza = Bulletin of the Central Scientific Research Institute of Tuberculosis*. 2018; 2: 5–20. doi: 10.7868/S2587667818020012 (In Russ.).
4. Zeynali kelishomi F., Khanjani S., Fardsanei F., Saghi Sarabi H., Nikkhahi F., Dehghani B. Bacteriophages of *Mycobacterium tuberculosis*, their diversity, and potential therapeutic uses: a review. *BMC Infectious Diseases*. 2022; 22 (1): 957. doi: 10.1186/s12879-022-07944-9.
5. Zimina V. N., Degtyareva S. YU., Beloborodova E. N., Kulabuhova E. I., Rusakova L. I., Fesenko O. V. Mycobacteriosis: current state of the problem. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya = Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2017; 19 (4): 276–282 (In Russ.).
6. Lyukshin D. V., Borodulina E. A., Vdovina D. V., Zaytseva O. A. Non-tuberculous mycobacterioses of the lungs: problems of diagnosis and treatment. *Vrach = Doctor*. 2023; 34 (8): 33–39 (In Russ.).
7. Bonacorsi A., Ferretti K., Di Luca M., Rindi L. Mycobacteriophages and their use. *Antibiotics*. 2024; 13 (10): 926. doi: 10.3390/antibiotics13100926.
8. Zaychikova M. V., Avdeev V. V., Kuznetsova S. M., Malakhova M. V., Shitikov E. A. Biodiversity and prospects for therapeutic and diagnostic use of mycobacteriophages in the Russian Federation. *Infektsiya i immunitet = Infection and immunity*. 2026; 16 (1): 9–24. doi: 10.15789/2220-7619-BDA-18100 (In Russ.).
9. Sparks I. L., Derbyshire K. M., Jacobs W. R. Jr., Morita Y. S. *Mycobacterium smegmatis*: the vanguard of mycobacteriological research. *Journal of Bacteriology*. 2023; 205 (1): e0033722. doi: 10.1128/jb.00337-22.

10. Hosseini Purham S., Sechi L. A. An overview of mycobacteriophages: from classification to application. *Pathogens*. 2022; 11 (7): 777. doi: 10.3390/pathogens11070777.
11. Kropinski A. M., Mazzocco A., Waddell T. E., Lingohr E., Johnson R. P. Enumeration of bacteriophages by the double agar overlay plaque assay. *Bacteriophages: Methods and Protocols*. 2009; 501: 69–76. doi: 10.1007/978-1-60327-164-6\_7.
12. Zhirnov V. A., Netesov S. V. Import substitution in biological science and biotechnology. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 2022; 67 (1): 7–12. doi: 10.36233/0507-4088-2022-67-1-7-12 (in Russ.).
13. Guan J., Ibarra D., and Tseng L. The role of lateral tail fibers in the infection cycle of the lambda phage. *Virology*. 2019; 527: 57–63. doi: 10.1016/j.virol.2018.11.005.
14. Olszak T., Latka A., Roszniewski B., Valvano M. A., Drulis-Kawa Z. Phage life cycles behind bacterial biodiversity. *Current medicinal chemistry*. 2017; 24 (36): 3987–4001. doi: 10.2174/0929867324666170413100136.

### Информация об авторах

**Г. Н. Генатуллина**, кандидат биологических наук, доцент, заместитель руководителя научно-исследовательского центра, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, ORCID: 0000-0001-5417-4477, e-mail: genatullina@mail.ru;

**А. А. Цибизова**, кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, ORCID: 0000-0002-9994-4751, e-mail: sasha3633@yandex.ru;

**А. Л. Ясенявская**, доктор медицинских наук, доцент, руководитель научно-исследовательского центра, заведующий кафедрой фармакогнозии, фармацевтической технологии и биотехнологии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, ORCID: 0000-0003-2998-2864, e-mail: yasen\_9@mail.ru;

**С. В. Поройский**, доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой экстремальной медицины и безопасности жизнедеятельности, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, ORCID: 0000-0001-6990-6482, e-mail: post@astgmu.ru;

**М. А. Самотруева**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой нормальной физиологии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, ORCID: 0000-0001-5336-4455, e-mail: ms1506@mail.ru;

**М. В. Лазко**, доктор биологических наук, профессор, начальник управления науки, профессор кафедры микробиологии и вирусологии, Астраханский государственный медицинский университет, Астрахань, Россия, ORCID: 0000-0001-6245-2553, e-mail: lazkomv@mail.ru.

### Information about the authors

**G. N. Genatullina**, Cand. Sci. (Biol.), Associate Professor, Deputy Head of the Research Center, Associate Professor of the Department, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, ORCID: 0000-0001-5417-4477, e-mail: genatullina@mail.ru;

**A. A. Tsibizova**, Cand. Sci. (Pharm.), Associate Professor, Associate Professor of the Department, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, ORCID: 0000-0002-9994-4751, e-mail: sasha3633@yandex.ru;

**A. L. Yasyanvskaya**, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Scientific Research Center, Head of the Department, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, ORCID: 0000-0003-2998-2864, e-mail: yasen\_9@mail.ru;

**S. V. Poroyskiy**, Dr. Sci. (Med.), Associate Professor, Head of the Department, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, ORCID: 0000-0001-6990-6482, e-mail: post@astgmu.ru;

**M. A. Samotrueva**, Dr. Sci. (Med.), Professor, Head of the Department, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, ORCID: 0000-0001-5336-4455, e-mail: ms1506@mail.ru;

**M. V. Lazko**, Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Science Department, Professor of the Department, Astrakhan State Medical University, Astrakhan, Russia, ORCID: 0000-0001-6245-2553, e-mail: lazkomv@mail.ru.

---

Статья поступила в редакцию 01.06.2026; одобрена после рецензирования 08.06.2026; принята к публикации 22.06.2026.

The article was submitted 01.06.2026; approved after reviewing 08.06.2026; accepted for publication 22.06.2026.