

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *TREPONEMA PALLIDUM* IN VITRO: ОТ КРОЛИЧЬЕЙ МОДЕЛИ К ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ КЛЕТОЧНЫМ СИСТЕМАМ

А.К. Наханов , С.К. Коканов *, Б.А. Еспембетов , Н.С. Сырым ,
А.А. Теребай , Л.Г. Мараховская

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»,
Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Республика Казахстан

*s.kokanov@biosafety.kz

Аннотация. *Treponema pallidum subsp. pallidum* является возбудителем сифилиса - социально значимой инфекции человека, заболеваемость которой сохраняет тенденцию к росту во многих регионах мира. Несмотря на наличие эффективной антибактериальной терапии, изучение биологии данного патогена длительное время было ограничено невозможностью его устойчивого культивирования в искусственных условиях. Исторически поддержание лабораторных штаммов *T. pallidum* осуществлялось преимущественно путем интратестикулярного пассирования на лабораторных кроликах, что сопровождалось биоэтическими, технологическими и регуляторными ограничениями. Цель обзора - систематизировать современные данные о развитии систем культивирования *T. pallidum in vitro*: от кроличьей модели и ранних тканевых культур до платформы Sf1Er, прямого выделения современных клинических штаммов и появления человеческих клеточных систем. В обзоре рассмотрены биологические причины трудности культивирования *T. pallidum*, включая редуцированный геном, ограниченные метаболические возможности, зависимость от клетки-хозяина и чувствительность к кислороду. Показано, что система долгосрочного сокультивирования с эпителиальными клетками кролика Sf1Er в среде ТрСМ-2 стала ключевым технологическим этапом в экспериментальной трепонемологии. Последующие исследования расширили спектр культивируемых штаммов, продемонстрировали возможность прямого выделения современных изолятов от пациентов и открыли перспективу использования человеческих фибробластных клеточных систем. Сделан вывод, что культивирование *T. pallidum in vitro* следует рассматривать как перспективную научно-технологическую платформу для изучения физиологии возбудителя, взаимодействия с клетками хозяина, оценки антибиотикочувствительности, снижения зависимости от животных моделей и развития биобезопасных экспериментальных подходов.

Ключевые слова: *Treponema pallidum*; сифилис; культивирование *in vitro*; Sf1Er; ТрСМ-2; человеческие фибробласты; клеточные культуры; кроличья модель; биобезопасность; трепонемология.

Введение

Сифилис остается одной из наиболее значимых бактериальных инфекций человека, передаваемых преимущественно половым путем. Несмотря на наличие эффективной антибактериальной терапии, глобальная эпидемиологическая ситуация по сифилису остается неблагоприятной. По данным ВОЗ, в 2022 году было зарегистрировано около 8 млн новых случаев сифилиса среди взрослых в возрасте 15-49 лет, что подтверждает сохраняющуюся актуальность изучения возбудителя, совершенствования лабораторного мониторинга и

разработки новых экспериментальных подходов к исследованию *Treponema pallidum* [1]. Глобальные оценки распространенности инфекций, передаваемых половым путем, также показывают, что сифилис сохраняет значительную медико-социальную нагрузку [2].

Современная эпидемиологическая ситуация подтверждает, что сифилис остается не только исторически значимой, но и актуальной инфекцией XXI века. Обзор Peeling и соавторов характеризует сифилис как инфекцию с выраженной инвазивностью, способностью к иммунному уклонению, длительным латентным течением и широким спектром клинических проявлений [3]. Наблюдение CDC за инфекциями, передаваемыми половым путем, указывает на дальнейшую значимость сифилиса для общественного здравоохранения [4]. Общие международные вызовы контроля инфекций, передаваемых половым путем, включают рост заболеваемости, неравномерный доступ к диагностике и необходимость усиления лабораторного мониторинга [5].

Современная лабораторная диагностика сифилиса преимущественно основана на серологических алгоритмах, включающих трепонемные и нетрепонемные тесты. Рекомендации CDC 2024 года подчеркивают, что серология остается основой лабораторного подтверждения сифилиса, а методы прямого выявления *T. pallidum* применяются главным образом при наличии активных поражений и соответствующей лабораторной инфраструктуры [6]. Однако серологические методы не позволяют изучать жизнеспособность возбудителя, его рост, взаимодействие с клетками, фенотипическую вариабельность и чувствительность к антибактериальным препаратам.

Treponema pallidum subsp. pallidum представляет собой высокоадаптированную спирохету с выраженной зависимостью от организма хозяина. Биологические особенности возбудителя, включая редуцированный геном, ограниченные метаболические возможности, чувствительность к кислороду и сложное строение наружной мембраны, в течение десятилетий препятствовали его устойчивому культивированию *in vitro* [7-15]. В результате экспериментальная трепонемология длительное время зависела от моделей *in vivo*, прежде всего от пассирования патогена на лабораторных кроликах.

Кроличья модель сыграла фундаментальную роль в сохранении лабораторных штаммов, изучении патогенеза сифилиса и разработке методов диагностики. Однако ее использование связано с рядом ограничений: необходимостью содержания специализированных вивариев, биоэтической нагрузкой, межсерийной вариабельностью биологического материала и трудностью стандартизации условий получения живых трепонем [16-17]. Эти факторы стимулировали поиск альтернативных клеточных систем, способных поддерживать жизнеспособность и репродукцию *T. pallidum* в контролируемых условиях *in vitro*.

Цель обзора - систематизировать современные данные о развитии систем культивирования *Treponema pallidum in vitro*: от кроличьей модели и ранних тканевых культур до платформы Sf1Ep, прямого выделения современных клинических штаммов и человеческих клеточных систем, а также оценить их значение для экспериментальной трепонемологии, биобезопасности и перспектив замещения животных моделей.

Методология обзора

Настоящая работа представляет собой обзорную статью аналитического типа, основанную на обобщении опубликованных данных о развитии систем культивирования *Treponema pallidum in vitro*. Такой формат выбран с учетом цели статьи: не проводить метаанализ количественных эффектов, а последовательно проследить развитие технологических подходов к культивированию *Treponema pallidum in vitro*, показать биологические причины трудности культивирования, оценить значение кроличьей модели, систем Sf1Ep/TrCM-2, прямого выделения современных клинических штаммов и первых человеческих клеточных платформ.

Поиск и отбор источников проводили по тематическим блокам: эпидемиология сифилиса; геномная и метаболическая организация *T. pallidum*; наружная мембрана и антигенная вариабельность; лабораторное поддержание штаммов и кроличья модель; ранние попытки культивирования *in vitro*; долгосрочное культивирование на клетках Sf1Er; прямое выделение современных клинических штаммов; человеческие клеточные системы; антибиотикорезистентность; лабораторная биобезопасность и перспективы замещения животных моделей.

В обзор включали оригинальные экспериментальные работы, обзорные публикации и документы международных или национальных организаций, содержащие сведения о биологии *T. pallidum*, условиях поддержания возбудителя *in vivo* и *in vitro*, клеточных линиях, культуральных средах, газовой атмосфере, режимах субкультивирования, критериях жизнеспособности, молекулярном типировании, геномной эпидемиологии, биобезопасности и использовании животных моделей.

Приоритет отдавали публикациям, в которых были описаны воспроизводимые условия культивирования, поддержания, субкультивирования или выделения *T. pallidum*, а также работам, повлиявшим на развитие экспериментальной трепонемологии. Дополнительно учитывали руководства ВОЗ, CDC и национальных лабораторных служб, поскольку они задают контекст безопасной работы с клиническим материалом и живыми культурами возбудителя.

Хронологически обзор охватывает классические исследования 1970-1980-х годов и современные публикации 2018-2026 годов, связанные с долгосрочным культивированием, расширением спектра штаммов, прямой изоляцией клинических образцов и переходом к человеческим клеточным системам. Такой временной диапазон позволяет показать эволюцию исследовательской логики: от кратковременного сохранения подвижности спирохет к воспроизводимым клеточным платформам.

Ограничением обзора является отсутствие собственного экспериментального сравнения культуральных систем и невозможность прямого статистического сопоставления результатов разных лабораторий. В опубликованных работах различались исходные штаммы, плотность инокулята, клеточные линии, состав среды, режим кислородной атмосферы, интервалы пассажей и критерии оценки жизнеспособности. Поэтому выводы статьи основаны на качественном сопоставлении воспроизводимости, технологической значимости, биологической релевантности и перспектив практического применения описанных систем.

Биологические причины трудности культивирования *Treponema pallidum*

Treponema pallidum относится к числу наиболее требовательных к условиям культивирования бактериальных патогенов. В отличие от многих возбудителей бактериальных инфекций, она не размножается на стандартных плотных и жидких питательных средах. Это связано не с отсутствием одного технического приема, а с комплексом биологических особенностей: редуцированным геномом, ограниченным метаболизмом, зависимостью от клетки-хозяина, чувствительностью к кислороду и высокой лабильностью наружной мембраны [7-13].

Одной из ключевых причин является выраженная геномная редукция. Геном *T. pallidum* имеет небольшой размер и содержит ограниченный набор генов, обеспечивающих автономный метаболизм. У возбудителя отсутствуют полноценные пути цикла трикарбоновых кислот, окислительного фосфорилирования и многие ферментные системы, необходимые для самостоятельного синтеза аминокислот, жирных кислот, нуклеотидов и ряда кофакторов [7-9]. Поэтому *T. pallidum* зависит от поступления готовых метаболитов из окружающей среды и организма хозяина.

Особенности *T. pallidum* как «скрытого» патогена подробно рассмотрены Radolf и соавторами, которые подчеркивают сочетание инвазивности, иммунного уклонения, метаболической зависимости от хозяина и ограниченной возможности генетической

манипуляции [11]. Эти свойства объясняют, почему традиционные микробиологические подходы, успешно применяемые к многим бактериальным патогенам, оказались малопригодными для бледной трепонемы.

Наружная мембрана *T. pallidum* отличается низкой плотностью поверхностно-экспонированных белков, что способствует иммунному уклонению, но одновременно делает возбудителя чувствительным к физическим, химическим и окислительным воздействиям [11-12]. Структурное моделирование белкового репертуара наружной мембраны подтверждает сложность ее организации и необходимость осторожной интерпретации поверхностной антигенности [13].

Дополнительным фактором является антигенная вариабельность белков семейства Trp, особенно TrpK. Показано, что TrpK является мишенью опсонизирующих антител и защитного иммунного ответа [14], а его вариабельные участки способны накапливать изменения под давлением иммунной системы хозяина [15]. Для культивирования это важно как показатель сложной адаптации *T. pallidum* к длительному существованию в организме, а не к автономному росту во внешней среде.

Таким образом, трудность культивирования *T. pallidum* определяется сочетанием нескольких факторов: неспособностью к полноценному автономному биосинтезу, потребностью в восстановительной микроаэрофильной среде, чувствительностью к окислительному и механическому стрессу, а также зависимостью от клеточного микроокружения.

Таблица 1 – Биологические факторы, ограничивающие культивирование *Treponema pallidum in vitro*

Биологический фактор	Проявление	Значение для культивирования
Редуцированный геном	Ограниченный набор генов автономного метаболизма	Необходимость поступления готовых метаболитов из среды или клеточного монослоя
Ограниченный энергетический метаболизм	Зависимость преимущественно от гликолиза	Высокая чувствительность к составу среды и доступности углеводных субстратов
Чувствительность к кислороду	Повреждение при избытке кислорода и окислительном стрессе	Необходимость микроаэрофильной и восстановительной среды
Лабильная наружная мембрана	Низкая плотность поверхностных белков, чувствительность к повреждению	Необходимость мягких условий инкубации и обработки
Зависимость от клетки-хозяина	Потребность в метаболическом и контактном взаимодействии	Использование клеточного монослоя вместо бесклеточных питательных сред
Медленное деление	Длительный период удвоения популяции	Необходимость продолжительного наблюдения и регулярного субкультивирования

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о геномной организации, метаболической редукции и особенностях культивирования *T. pallidum* [7-13].

Кроличья модель: историческое значение и ограничения

Исторически кроличья модель стала основным способом поддержания жизнеспособных штаммов *Treponema pallidum* и получения инфекционного материала для экспериментальной трепонемологии. В классических протоколах *T. pallidum* выделяли из клинического материала или лабораторных штаммов, после чего поддерживали путем пассивирования в организме лабораторных кроликов, преимущественно через интратестикулярное заражение [16].

Кроличья модель сыграла фундаментальную роль в сохранении эталонных и клинических штаммов, включая *Nichols* и другие лабораторные линии, которые использовались для изучения патогенеза сифилиса, антигенной структуры возбудителя, иммунного ответа и чувствительности к антибактериальным препаратам [16]. Именно экспериментальные модели сифилиса позволили показать роль TrpK в иммунном ответе и накопление варибельности под иммунным давлением [14-15].

Однако зависимость от кроличьей модели имеет существенные ограничения. Использование лабораторных животных связано с биоэтическими требованиями и необходимостью соблюдения принципов гуманного обращения, включая подходы Replacement, Reduction and Refinement, то есть замену, сокращение и совершенствование экспериментов на животных [17]. Кроме того, содержание животных, заражение, наблюдение, эвтаназия и получение материала требуют специализированной инфраструктуры, обученного персонала, контроля биологической безопасности и стабильного ветеринарного сопровождения.

Технологическим ограничением является межсерийная варибельность материала, полученного от животных. На выход трепонем, степень воспалительной реакции, качество тканевого лизата и состав примесей могут влиять индивидуальные особенности животного, стадия инфекции, условия содержания, сопутствующая микробиота и технические особенности выделения материала [16].

С развитием долгосрочных систем культивирования *in vitro* роль кроличьей модели начала меняться. Она сохраняет значение как исторически проверенная модель для поддержания штаммов и оценки вирулентности, однако уже не может рассматриваться как единственная технологическая основа трепонемологии.

Таблица 2 – Значение и ограничения кроличьей модели в исследованиях *Treponema pallidum*

Аспект	Значение кроличьей модели	Ограничение
Поддержание штаммов	Позволяет сохранять жизнеспособные и вирулентные штаммы	Требуется использование лабораторных животных и специализированного вивария
Получение материала	Обеспечивает источник подвижных спирохет	Материал содержит тканевые компоненты хозяина
Изучение вирулентности	Позволяет оценивать инфекционность после пассажей	Связана с биоэтической нагрузкой
Стандартизация	Исторически применялась как воспроизводимая модель	Возможна межсерийная варибельность материала
Биобезопасность	Модель хорошо описана в лабораторных протоколах	Требуется контроль зараженных животных и биологических отходов
Замещение <i>in vitro</i>	Используется как сравнительная или исходная модель	Современные клеточные системы создают основу для снижения зависимости от животных

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о лабораторном поддержании *T. pallidum* и принципах гуманного обращения с лабораторными животными [16-17].

Ранние попытки культивирования *in vitro*: от выживания к ограниченной репликации

Попытки культивировать *Treponema pallidum* вне организма животного предпринимались задолго до появления современных клеточных технологий. Первые эксперименты с тканевыми культурами не привели к созданию устойчивой воспроизводимой системы размножения возбудителя [18]. На протяжении десятилетий основной проблемой оставалось то, что в искусственных условиях удавалось поддерживать подвижность и кратковременную

жизнеспособность спирохет, но не стабильную репликацию с возможностью последовательного пассирования [18-19].

В 1970-е годы интерес к *in vitro*-культивированию *T. pallidum* усилился благодаря развитию культур клеток млекопитающих и методов контролируемой газовой инкубации. Было показано, что вирулентные трепонемы способны прикрепляться к поверхности клеток тканевых культур и сохранять подвижность дольше, чем в бесклеточных условиях [20-21]. При этом наиболее благоприятные результаты получали при сниженной концентрации кислорода и добавлении восстановительных компонентов в культуральную среду [21].

Особое место занимают работы, в которых сообщалось о возможности субкультивирования *T. pallidum* в клетках ВНК-21 [22]. Однако последующие независимые исследования не смогли подтвердить эти результаты [23]. Этот эпизод показал, насколько критичным для трепонемологии является независимое подтверждение данных о репликации и пассировании возбудителя.

Наиболее важным этапом раннего периода стали исследования, связанные с клеточной линией Sf1Ер - эпителиальными клетками кролика. Было показано, что среди нескольких исследованных культур именно Sf1Ер обеспечивала наиболее длительное сохранение вирулентных трепонем [19]. В дальнейшем были опубликованы исследования, подтвердившие возможность репликации *T. pallidum* в культуре Sf1Ер и уточнившие факторы, влияющие на размножение и субкультивирование возбудителя [18, 24-25].

Таким образом, ранний период *in vitro*-исследований *T. pallidum* прошел путь от безуспешных тканевых культур и кратковременного выживания спирохет к ограниченной репликации в системе Sf1Ер. Эти данные создали основу для последующего технологического прорыва 2018 года.

Таблица 3 – Ранние этапы культивирования *Treponema pallidum in vitro*

Этап	Клеточная система / условия	Основной результат	Ограничение	Источники
Ранние тканевые культуры	Различные тканевые экспланты	Попытки поддержания спирохет вне организма животного	Отсутствие устойчивого роста	[18]
1970-е годы	Бесклеточные и тканевые системы	Продленное выживание вирулентных трепонем	Нет доказанного длительного пассирования	[19]
Клеточные культуры млекопитающих	Разные линии клеток	Прикрепление к клеточной поверхности	Преимущественно выживание, а не стабильная репликация	[20-21]
ВНК-21	Клетки почки новорожденного хомяка	Сообщение о росте и пассажах	Результаты не подтверждены независимо	[22-23]
Sf1Ер, 1981	Эпителиальные клетки кролика, 1,5% O ₂	Показано размножение вирулентного штамма <i>Nichols</i>	Ограниченная длительность системы	[18]
Sf1Ер, 1982-1986	Уточнение условий субкультивирования	Подтверждение роли условий среды	Не достигнута длительная непрерывная культура	[24-25]

Примечание. Таблица составлена авторами по опубликованным данным ранних исследований культивирования *T. pallidum in vitro* [18-25].

Долгосрочное культивирование *Treponema pallidum in vitro*: технологический прорыв

Принципиальный перелом в экспериментальной трепонемологии произошел в 2018 году, когда Edmondson, Hu и Norris описали воспроизводимую систему долгосрочного культивирования *Treponema pallidum subsp. pallidum in vitro* [26]. До этого клеточные системы рассматривались преимущественно как модели продленного выживания или ограниченной репликации, тогда как поддержание жизнеспособных штаммов возбудителя продолжало зависеть от пассирования на лабораторных кроликах.

Основу данной платформы составило сокультивирование трепонем с эпителиальными клетками кролика Sf1Ep в модифицированной среде ТрСМ-2 при низком содержании кислорода. Ключевыми условиями были наличие клеточного монослоя, восстановительная культуральная среда, поддержание микроаэрофильной атмосферы, регулярное обновление среды и субкультивирование каждые 6-7 суток [26].

Дальнейшие исследования подтвердили устойчивость и расширяемость этой технологии. В 2021 году было показано, что система позволяет поддерживать непрерывное культивирование *T. pallidum* в течение длительного времени и применима не только к штамму *Nichols*, но и к другим штаммам и подвидам патогенных трепонем [27]. Отдельные протоколы культивирования описали практические условия работы с культурой в стандартной лабораторной среде [28].

Оптимизация параметров культуры показала, что устойчивое размножение *T. pallidum* зависит от качества клеточного монослоя Sf1Ep, состава среды ТрСМ-2, концентрации кислорода, режима замены среды, плотности инокулята, интервалов субкультивирования и контроля контаминации [27-28]. Следовательно, данная система требует высокой технологической дисциплины: малейшее нарушение условий может привести к снижению подвижности, нарушению репликации и потере культуры.

Долгосрочное культивирование *in vitro* изменило возможности исследования *T. pallidum*. Оно создало условия для получения более стандартизированного живого материала, проведения длительных наблюдений за ростом и адаптацией штаммов, межштаммового сравнения, оценки факторов репликации и последующего изучения антибиотикочувствительности [26-29].

Таблица 4 – Ключевые элементы системы долгосрочного культивирования *Treponema pallidum in vitro*

Элемент системы	Характеристика	Значение для культивирования	Источники
Клеточная линия Sf1Ep	Эпителиальные клетки кролика	Создают клеточное микроокружение и поддерживают репликацию	[26-28]
Среда ТрСМ-2	Модифицированная культуральная среда	Обеспечивает питательные, восстановительные и буферные условия	[26-28]
Низкокислородная атмосфера	Микроаэрофильные условия	Снижает повреждающее действие кислорода и окислительного стресса	[26-27]
Регулярное субкультивирование	Перенос культуры через определенные интервалы	Поддерживает логарифмическое размножение	[26-28]
Контроль состояния монослоя	Поддержание жизнеспособности клеточного монослоя	Сохраняет стабильность взаимодействия с клеточной поверхностью	[27-28]
Межштаммовое применение	Использование разных штаммов <i>T. pallidum</i>	Позволяет изучать физиологическую вариабельность	[27, 29]

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о долгосрочном культивировании *T. pallidum in vitro* [26-29].

Прямое выделение современных клинических штаммов от пациентов

Следующим важным этапом после создания системы долгосрочного культивирования стало прямое выделение современных клинических штаммов *Treponema pallidum* из материала пациентов. Это направление имеет принципиальное значение, поскольку классическая трепонемология длительное время опиралась преимущественно на лабораторные штаммы, поддерживаемые через кроличью модель, тогда как циркулирующие в человеческой популяции варианты возбудителя могут иметь собственные генетические и физиологические особенности.

В 2025 году Bosak и соавторы предложили протокол *in vitro*-изоляции *T. pallidum* непосредственно из клинических образцов пациентов с сифилисом без предварительного пассирования на кроликах [30]. Клинический материал помещали в среду ТрСМ-2, затем использовали фильтрацию и последующее культивирование на клетках Sf1Ер. Такой подход позволял одновременно снизить загрязнение клинического материала сопутствующими компонентами и обогатить культуру жизнеспособными спирохетами.

Практическая ценность работы заключалась в том, что из клинических образцов удалось получить стабильные культуры *T. pallidum*. Это показало, что *in vitro*-система может использоваться не только для поддержания уже известных лабораторных штаммов, но и для выделения современных клинически значимых изолятов [30].

Геномные исследования современных штаммов показывают, что различия между линиями *T. pallidum* не ограничиваются формальными типировочными маркерами. Глобальный анализ выявил широкое распространение двух основных линий - *Nichols* и *SS14* - и показал, что обе линии циркулируют в разных странах [31-32]. Развитие молекулярного типирования также позволило оценивать географическое распределение типов и связь отдельных генетических вариантов с клиническими формами инфекции [33].

Происхождение и распространение современных линий *T. pallidum* рассматриваются в геномных исследованиях Агора и соавторов, которые показали существование пандемического кластера, связанного с современным сифилисом [34]. В дальнейшем были опубликованы данные о независимом возникновении макролидной устойчивости в нескольких циркулирующих линиях [35], а также о современных вспышках и популяционной структуре возбудителя в отдельных регионах [36]. Международное исследование клинического и геномного разнообразия *T. pallidum* подтвердило значение репрезентативных данных о циркулирующих штаммах для будущих вакцинных исследований [37]. Анализ современных и древних геномов дополнительно показывает, что выбор референсного генома и стратегия картирования могут влиять на филогенетическую интерпретацию [38], а интегрированные геномные подходы позволяют уточнять классификацию линий возбудителя [39].

Таким образом, прямое выделение *T. pallidum* из клинического материала пациентов стало логичным развитием платформы долгосрочного культивирования. Оно переводит *in vitro*-культивирование из области фундаментальной лабораторной модели в область прикладной клинической и эпидемиологической трепонемологии.

Таблица 5 – Значение прямого выделения современных клинических штаммов *Treponema pallidum in vitro*

Аспект	Содержание	Научное и практическое значение	Источники
Источник материала	Клинические образцы пациентов с сифилисом	Позволяет работать с современными вариантами возбудителя	[30]
Исключение кроличьей стадии	Первичное выделение проводится непосредственно <i>in vitro</i>	Снижает зависимость от животных моделей	[30]

Аспект	Содержание	Научное и практическое значение	Источники
Клеточная поддержка	Среда TrCM-2 и клетки Sf1Er	Обеспечивает условия для выживания и репликации	[26-27, 30]
Генетическая характеристика	<i>Nichols-like</i> и <i>SS14-like</i> линии	Позволяет изучать современные линии в живой культуре	[30-36]
Перспектива применения	Геномика, фенотипирование, антибиотикочувствительность, патогенез	Расширяет возможности клинической трепонемологии	[29-36]

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о прямой *in vitro*-изоляции современных штаммов *T. pallidum* и исследований генетического разнообразия возбудителя [30-36].

Человеческие клеточные системы культивирования *Treponema pallidum*

Переход от кроличьих клеток Sf1Er к человеческим клеточным системам стал следующим закономерным этапом развития *in vitro*-культивирования *Treponema pallidum*. Система Sf1Er + TrCM-2 доказала возможность длительного поддержания и размножения возбудителя *in vitro* [26-27], однако она основана на клетках животного происхождения. Для изучения взаимодействия *T. pallidum* с тканями человека более физиологически релевантными являются модели, включающие человеческие клетки.

В 2026 году Bosak, Hrala, Pospisilova, Bosakova и Smajs описали первую человеческую клеточную систему культивирования сифилитической спирохеты *T. pallidum* [40]. Авторы оценивали три линии человеческих фибробластов крайней плоти - HFF1, HFFC и MoNa - как альтернативу кроличьим эпителиальным клеткам Sf1Er. Выбор фибробластов человека является логичным, поскольку *T. pallidum* в организме взаимодействует с тканевыми структурами, межклеточным матриксом и клетками соединительной ткани.

Методически человеческая клеточная система основана на проверенной логике долгосрочного культивирования: среде TrCM-2, низкокислородных условиях, клеточном монослое и регулярном контроле роста спирохет [40]. Вместе с тем перенос протокола с Sf1Er на человеческие фибробласты нельзя считать простой заменой клеточного субстрата: происхождение линии, число пассажей, состояние монослоя и особенности клеточного метаболизма могут существенно влиять на результат.

Главное преимущество человеческих фибробластов состоит в повышении физиологической релевантности модели и возможности изучать адгезию, выживание, репликацию и клеточный ответ в контролируемых условиях. Однако опубликованные данные пока получены ограниченным числом исследовательских групп. Не определены допустимые диапазоны плотности клеток и инокулята, критерии стабильности длительных пассажей и степень сохранения вирулентности и фенотипа исходного штамма.

Критическими ограничениями остаются межлабораторная вариабельность, различия между партиями сыворотки и реагентов, возможный дрейф свойств клеточных линий, сложность унификации газового режима и субъективность оценки подвижности трепонем. Поэтому необходимы независимое воспроизведение результатов, многоцентровая валидация, единые контрольные штаммы и согласованные критерии приемлемости культуры. Трехмерные культуры, органоиды и микрофизиологические платформы потенциально лучше воспроизводят тканевую архитектуру, но для *T. pallidum* пока остаются перспективными, а не валидированными моделями [41-44].

Следовательно, человеческие клеточные системы являются важным направлением развития, но на современном этапе должны рассматриваться как экспериментальные платформы, требующие дальнейшей стандартизации и независимого подтверждения.

Таблица 6 – Значение человеческих клеточных систем для культивирования *Treponema pallidum*

Аспект	Характеристика	Значение для исследований	Источники
Клеточный субстрат	Человеческие фибробластные линии HFF1, HFFC и MoNa	Повышение физиологической релевантности модели	[40]
Альтернатива Sf1Er	Замена кроличьих эпителиальных клеток человеческими клетками	Снижение зависимости от клеток животного происхождения	[26-27, 40]
Методическая основа	ТрСМ-2, клеточный монослой, низкокислородные условия	Сохранение проверенной логики долгосрочной культуры	[26-27, 40]
Будущие модели	Органоиды, трехмерные культуры, микрофизиологические системы	Приближение к тканевым условиям организма человека	[41-44]
Ограничения	Ограниченный объем данных; зависимость от характеристик клеточной линии и реагентов; риск межлабораторной вариабельности	Требуются независимая валидация, контрольные штаммы и единые критерии приемлемости	[40]

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о первой человеческой клеточной системе культивирования *T. pallidum* и современных органоидных платформах [40-44].

Таблица 7 – Сравнительная характеристика моделей культивирования *Treponema pallidum*

Критерий	Кроличья модель	Sf1Er + ТрСМ-2	Человеческие фибробласты	3D-модели/органоиды
Воспроизводимость	Средняя; зависит от животного и стадии инфекции	Высокая при строгом соблюдении протокола	Предварительно подтверждена; требуется независимая валидация	Не установлена для <i>T. pallidum</i>
Физиологическая релевантность	Системная модель инфекции, но межвидовые различия	Ограничена клетками кролика	Выше для взаимодействия с клетками человека	Потенциально наиболее высокая
Стоимость и инфраструктура	Высокие; необходим виварий	Средние; клеточная лаборатория и контроль газовой среды	Средние/высокие; требуется стандартизованная клеточная линия	Высокие; сложные матриксы и оборудование
Биоэтическая нагрузка	Высокая	Низкая	Низкая	Низкая
Биобезопасность	Риски работы с зараженными	Риски манипуляций с живой	Аналогичные риски живой культуры плюс	Зависит от закрытости и сложности

	животными и отходами	культурой	контроль человеческих клеток	системы
Длительное культивирование	Поддержание через пассажи <i>in vivo</i>	Подтверждено	Показано в первой системе, но объем данных ограничен	Не продемонстрировано
Антибиотикочувствительность	Возможна, но трудоемка и вариабельна	Перспективна для фенотипической оценки	Перспективна, после валидации	Теоретически возможна
Стандартизация и межлабораторная переносимость	Ограниченная	Наиболее разработанная среди <i>in vitro</i> -систем	Недостаточная; необходимы контрольные критерии	Отсутствует для <i>T. pallidum</i>

Примечание. Сравнение выполнено авторами по данным о кроличьей модели, системах Sf1Er/TrCM-2, человеческих фибробластах и перспективных трехмерных моделях [16-17, 26-28, 40-44].

Аналогичный риск-ориентированный подход к управлению биологическими рисками и биозащите лабораторий представлен в профильных публикациях журнала «Биобезопасность и Биотехнология» [57-58].

Биобезопасность и регуляторные аспекты культивирования *Treponema pallidum in vitro*

Развитие систем культивирования *T. pallidum in vitro* расширило возможности экспериментальной трепонемологии, однако одновременно повысило требования к биобезопасности, регуляторному контролю и документированию лабораторных процедур. Если серологическая диагностика сифилиса преимущественно связана с исследованием инаktivированных или непропативных образцов, то культивирование живого возбудителя, работа с клиническим материалом, клеточными культурами и криобанками требуют более строгого риск-ориентированного подхода.

Современные документы ВОЗ по лабораторной биобезопасности подчеркивают риск-ориентированный подход: уровень мер защиты должен определяться не только свойствами биологического агента, но и характером выполняемой процедуры, объемом материала, вероятностью образования аэрозолей, компетентностью персонала и возможными последствиями инцидента [45-46]. Такой подход особенно важен для работы с *T. pallidum*, поскольку риск при микроскопии, фильтрации, культивировании, криохранении и транспортировке образцов будет различаться.

Согласно паспорту безопасности патогена, *T. pallidum* относится к патогенам человека, работа с которыми требует соответствующего уровня лабораторной изоляции, стандартных процедур и контроля персонала [47]. Для статьи это важно сформулировать аккуратно: речь идет не о максимальной опасности, а о необходимости четкой системы контроля, обучения персонала, инженерной защиты и процедурной дисциплины.

Первым критическим звеном является работа с клиническим материалом. Образцы из оральных и генитальных поражений пациентов могут содержать не только *T. pallidum*, но и сопутствующую микробиоту, клетки хозяина, кровь, секреты слизистых оболочек и другие потенциально инфекционные компоненты [30, 45-47]. Поэтому прием, маркировка, транспортировка внутри лаборатории, первичная обработка и внесение материала в культуру должны выполняться по утвержденным стандартным операционным процедурам.

Второе звено - культивирование живого возбудителя на клеточных культурах. Система Sf1Er + TrCM-2, а также человеческие фибробластные модели требуют регулярных манипуляций: замены среды, микроскопического контроля, переноса культуры, учета количества трепонем и оценки подвижности [26-27, 40]. Каждая такая операция может сопровождаться риском загрязнения культуры, случайного контакта персонала с материалом или перекрестной контаминации между штаммами.

Третье звено - криохранение и учет штаммов. Долгосрочное культивирование *T. pallidum* и прямое выделение клинических штаммов создают необходимость формирования коллекций живых культур [27, 30]. Каждая культура должна иметь уникальный идентификационный код, паспорт штамма, сведения о происхождении, дате выделения, количестве пассажей, условиях культивирования, результатах контроля контаминации и месте хранения.

Таблица 8 – Основные риски и меры контроля при культивировании *Treponema pallidum in vitro*

Этап работы	Потенциальный риск	Основные меры контроля	Источники
Прием клинического материала	Контакт с потенциально инфекционными образцами	Маркировка, герметичная упаковка, биологический шкаф безопасности, средства индивидуальной защиты	[30, 45-47]
Первичная обработка образцов	Образование аэрозолей, загрязнение поверхностей	Минимизация аэрозолей, закрытые емкости, дезинфекция рабочих поверхностей	[45-46]
Фильтрация и внесение в культуру	Контаминация культуры, контакт персонала с материалом	Работа по СОП, стерильные расходные материалы, разделение зон	[30, 45-47]
Сокультивирование с клетками	Перекрестная контаминация штаммов, потеря культуры	Раздельная работа со штаммами, контроль микоплазм, журнал пассажей	[26-27, 40]
Криохранение	Ошибки идентификации, потеря прослеживаемости	Паспорт штамма, уникальный код, журнал криобанка, резервное хранение	[27, 30]
Утилизация отходов	Сохранение инфекционного материала в отходах	Автоклавирование, химическая дезинфекция, журналы обеззараживания	[45-46]

Примечание. Таблица составлена авторами с учетом современных подходов к лабораторной биобезопасности и данных о культивировании *T. pallidum in vitro* [26-27, 30, 40, 45-47].

Перспективы применения *in vitro*-культивирования *Treponema pallidum*

Развитие систем культивирования *T. pallidum in vitro* сформировало экспериментальную платформу, которая объединяет исследования физиологии возбудителя, взаимодействия с клетками хозяина, антибиотикочувствительности, современных клинических изолятов и постепенного сокращения использования животных моделей [16-17, 26-30, 35, 40].

Ключевыми направлениями применения являются анализ метаболических потребностей и реакции на микроокружение, изучение адгезии и репликации на клетках хозяина, а также фенотипическая оценка действия антибактериальных препаратов. Последняя особенно важна на фоне распространения молекулярных маркеров устойчивости к макролидам, хотя пенициллин сохраняет статус основного средства терапии сифилиса [35, 48-51].

Прямое выделение клинических штаммов позволяет сопоставлять геномные и фенотипические характеристики актуальных *Nichols-like* и *SS14-like* линий, а

стандартизированные клеточные культуры могут служить источником более однородного биологического материала для межлабораторных исследований, разработки контрольных материалов и сравнительной иммунологии [26-36, 52-55].

Практическая ценность таких платформ будет определяться межлабораторной воспроизводимостью. Необходимы унифицированные критерии качества: исходная плотность и подвижность трепонем, состояние клеточного монослоя, состав среды, газовый режим, интервалы пассажей, отсутствие бактериальной и микоплазменной контаминации, условия криохранения и документированная прослеживаемость штамма [26-28, 40].

Технологическая стандартизация должна охватывать весь цикл работы, а не только рецептуру среды. Для клеточных технологий принципиально важны контроль жизнеспособности клеток, воспроизводимость характеристик монослоя и масштабируемость процессов; аналогичные требования рассматриваются в публикациях журнала «Биобезопасность и Биотехнология» по клеточным платформам и управлению биологическими рисками [56-58].

В дальнейшем возможна интеграция культуральных систем с микрофлюидными устройствами, автоматизированным контролем газовой среды и цифровой регистрацией параметров культуры. Однако внедрение таких решений требует предварительной валидации, паспортизации штаммов и регламентированных процедур биобезопасности.

Будущий прогресс будет зависеть от перехода от отдельных лабораторных достижений к воспроизводимым системам качества: с контрольными штаммами, паспортами культур, едиными критериями пригодности и прослеживаемостью пассажей. Поэтапная стратегия должна включать валидацию Sf1Ep/TrCM-2, работу с клиническими изолятами, независимую проверку человеческих клеточных систем и только затем развитие трехмерных моделей.

Специализированные коллекции *T. pallidum* могут использоваться для сравнительных исследований, межлабораторной проверки протоколов и подготовки контрольных материалов. Их создание требует этического сопровождения клинического материала, регламентированного обмена штаммами и строгого учета биологических рисков.

Культуральные системы целесообразно сочетать с темнопольной микроскопией, количественным учетом, геномным секвенированием, транскриптомикой и тестированием антибактериальных препаратов. Такое объединение позволит перейти от констатации роста к анализу механизмов адаптации, персистенции и межштаммовой вариабельности.

Важным направлением является также интеграция культуральных систем с современными аналитическими методами. Получение живых культур открывает возможность сочетать темнопольную микроскопию, количественный учет спирохет, геномное секвенирование, транскриптомный анализ, протеомику, оценку метаболических маркеров и тестирование антибактериальных препаратов. Именно объединение культуральной модели с молекулярными методами позволит перейти от описания факта роста к пониманию механизмов адаптации, персистенции и межштаммовой вариабельности *T. pallidum*.

Культивирование *Treponema pallidum in vitro* прошло путь от кратковременного сохранения спирохет до воспроизводимых систем долгосрочного сокультивирования. Кроличья модель сохраняет значение для отдельных задач, однако ее ограничения стимулировали развитие клеточных альтернатив.

Система Sf1Ep + TrCM-2 стала наиболее разработанной основой долгосрочного культивирования и прямого выделения клинических изолятов. Человеческие фибробластные системы повышают физиологическую релевантность, но требуют независимой межлабораторной валидации и унификации контрольных параметров.

Приоритетами дальнейшей работы являются стандартизация, контроль качества и биобезопасности, паспортизация культур, оценка антибиотикочувствительности и развитие моделей взаимодействия с клетками человека. Таким образом, *in vitro*-культивирование

представляет перспективную, но технологически требовательную платформу современной трепонемологии.

Следующим важным этапом стало прямое выделение современных клинических штаммов *T. pallidum* от пациентов без предварительного пассирования на кроликах [30]. Этот подход приблизил *in vitro*-культивирование к задачам клинической и эпидемиологической трепонемологии, поскольку позволил получать живые культуры актуальных циркулирующих линий возбудителя.

Появление человеческих клеточных систем культивирования стало еще одним принципиальным шагом. Использование фибробластных линий человека повышает физиологическую релевантность модели и создает условия для изучения взаимодействия спирохеты с клетками хозяина в более приближенной к естественной системе [40].

Вместе с тем современные системы культивирования *T. pallidum* требуют строгой стандартизации. Необходимы унифицированные протоколы подготовки клеточных культур, состава среды, газовой атмосферы, режима субкультивирования, оценки жизнеспособности, контроля контаминации, криохранения и учета штаммов.

Таким образом, *in vitro*-культивирование *T. pallidum* формирует новую научно-технологическую платформу для современной трепонемологии. Ее значение заключается в возможности изучать живой возбудитель в контролируемых условиях, снижать зависимость от животных моделей, получать современные клинические штаммы, развивать человеческие клеточные системы и создавать основу для будущих биотехнологических и диагностических решений.

Заключение

1. Историческая зависимость исследований *Treponema pallidum* от кроличьей модели была обусловлена невозможностью длительного и воспроизводимого культивирования возбудителя в искусственных условиях.

2. Биологические особенности *T. pallidum* - редуцированный геном, ограниченный метаболизм, чувствительность к кислороду и зависимость от клеточного микроокружения - определяют необходимость использования клеточных систем, а не обычных бесклеточных питательных сред.

3. Система Sf1Er + TrCM-2 стала ключевым технологическим прорывом, обеспечившим долгосрочное культивирование и регулярное субкультивирование *T. pallidum in vitro*.

4. Прямое выделение современных клинических штаммов от пациентов расширило значение *in vitro*-культивирования для клинической, эпидемиологической и сравнительной трепонемологии.

5. Человеческие клеточные системы являются перспективным направлением, поскольку повышают физиологическую релевантность модели и позволяют изучать взаимодействие *T. pallidum* с клетками человека.

6. Дальнейшее развитие данного направления требует стандартизации протоколов, контроля биобезопасности, учета штаммов, межлабораторной валидации и соблюдения биоэтических требований.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов: Концепция и дизайн обзора - А.К. Наханов, С.К. Коканов; сбор и анализ литературы - А.К. Наханов, Б.А. Еспембетов, Н.С. Сырым, А.А. Теребай; подготовка первоначального текста - А.К. Наханов; критическая редакция рукописи - С.К. Коканов, Л.Г. Мараховская; утверждение окончательной версии - все авторы.

Соответствие принципам этики: Настоящая работа является обзорной статьей и не содержит результатов собственных экспериментов с участием людей или животных. Этическое одобрение для подготовки обзора не требовалось.

Использование генеративного искусственного интеллекта: При подготовке редакционной версии рукописи могли использоваться инструменты языковой обработки текста для структурирования, стилистического редактирования и проверки связности изложения. Научное содержание, интерпретация источников и окончательная ответственность за текст принадлежат авторам.

Литература

1. World Health Organization. Sexually transmitted infections (STIs): strategic information. Syphilis estimates, 2022 / World Health Organization. - Geneva : WHO, 2024.
2. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016 / J. Rowley, S. Vander Hoorn, E. Korenromp [et al.] // Bulletin of the World Health Organization. - 2019. - Vol. 97, No. 8. - P. 548-562P. - DOI: 10.2471/BLT.18.228486.
3. Peeling R.W. Syphilis / R.W. Peeling, D. Mabey, M.L. Kamb, X.S. Chen, J.D. Radolf, A.S. Benzaken // Nature Reviews Disease Primers. - 2017. - Vol. 3. - Article 17073. - DOI: 10.1038/nrdp.2017.73.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Infections Surveillance, 2023 / Centers for Disease Control and Prevention. - Atlanta : CDC, 2024.
5. Sexually transmitted infections: challenges ahead / M. Unemo, C.S. Bradshaw, J.S. Hocking [et al.] // The Lancet Infectious Diseases. - 2017. - Vol. 17, No. 8. - P. e235-e279.
6. CDC Laboratory Recommendations for Syphilis Testing, United States, 2024 / J.R. Papp, I.U. Park, Y. Fakile [et al.] // MMWR Recommendations and Reports. - 2024. - Vol. 73, No. 1. - P. 1-32. - DOI: 10.15585/mmwr.rr7301a1.
7. Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete / C.M. Fraser, S.J. Norris, G.M. Weinstock [et al.] // Science. - 1998. - Vol. 281, No. 5375. - P. 375-388. - DOI: 10.1126/science.281.5375.375.
8. Weinstock G.M. The genome of *Treponema pallidum*: new light on the agent of syphilis / G.M. Weinstock, J.M. Hardham, M.P. McLeod, E.J. Sodergren, S.J. Norris // FEMS Microbiology Reviews. - 1998. - Vol. 22, No. 4. - P. 323-332.
9. Norris S.J. Biology of *Treponema pallidum*: correlation of functional activities with genome sequence data / S.J. Norris, D.L. Cox, G.M. Weinstock // Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. - 2001. - Vol. 3, No. 1. - P. 37-62.
10. Lafond R.E. Biological basis for syphilis / R.E. Lafond, S.A. Lukehart // Clinical Microbiology Reviews. - 2006. - Vol. 19, No. 1. - P. 29-49. - DOI: 10.1128/CMR.19.1.29-49.2006.
11. *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen / J.D. Radolf, R.K. Deka, A. Anand [et al.] // Nature Reviews Microbiology. - 2016. - Vol. 14, No. 12. - P. 744-759. - DOI: 10.1038/nrmicro.2016.141.
12. Radolf J.D. The *Treponema pallidum* outer membrane / J.D. Radolf, S. Kumar // Current Topics in Microbiology and Immunology. - 2018. - Vol. 415. - P. 1-38. - DOI: 10.1007/82_2017_44.

13. Structural modeling of the *Treponema pallidum* outer membrane protein repertoire / K.L. Hawley, J.M. Montezuma-Rusca, K.N. Delgado [et al.] // Journal of Bacteriology. - 2021. - Vol. 203, No. 15. - Article e00082-21.
14. *Treponema pallidum* major sheath protein homologue TprK is a target of opsonic antibody and the protective immune response / A. Centurion-Lara, C. Castro, L. Barrett [et al.] // Journal of Experimental Medicine. - 1999. - Vol. 189, No. 4. - P. 647-656.
15. Antigenic variation in *Treponema pallidum*: TprK sequence diversity accumulates in response to immune pressure during experimental syphilis / L. Giacani, B.J. Molini, E.Y. Kim [et al.] // Journal of Immunology. - 2010. - Vol. 184, No. 7. - P. 3822-3829.
16. Lukehart S.A. Isolation and laboratory maintenance of *Treponema pallidum* / S.A. Lukehart, C.M. Marra // Current Protocols in Microbiology. - 2007. - Chapter 12. - Unit 12A.1. - DOI: 10.1002/9780471729259.mc12a01s7.
17. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals / National Research Council. - 8th ed. - Washington, DC : The National Academies Press, 2011. - DOI: 10.17226/12910.
18. Fieldsteel A.H. Cultivation of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture / A.H. Fieldsteel, D.L. Cox, R.A. Moeckli // Infection and Immunity. - 1981. - Vol. 32, No. 2. - P. 908-915. - DOI: 10.1128/iai.32.2.908-915.1981.
19. Fieldsteel A.H. Prolonged survival of virulent *Treponema pallidum* (Nichols strain) in cell-free and tissue culture systems / A.H. Fieldsteel, F.A. Becker, J.G. Stout // Infection and Immunity. - 1977. - Vol. 18, No. 1. - P. 173-182. - DOI: 10.1128/iai.18.1.173-182.1977.
20. Fitzgerald T.J. *Treponema pallidum* (Nichols strain) in tissue cultures: cellular attachment, entry, and survival / T.J. Fitzgerald, J.N. Miller, J.A. Sykes // Infection and Immunity. - 1975. - Vol. 11, No. 5. - P. 1133-1140. - DOI: 10.1128/iai.11.5.1133-1140.1975.
21. Interaction of *Treponema pallidum* (Nichols strain) with cultured mammalian cells: effects of oxygen, reducing agents, serum supplements, and different cell types / T.J. Fitzgerald, R.C. Johnson, J.A. Sykes, J.N. Miller // Infection and Immunity. - 1977. - Vol. 15, No. 2. - P. 444-452. - DOI: 10.1128/iai.15.2.444-452.1977.
22. Growth and subculture of pathogenic *Treponema pallidum* (Nichols strain) in BHK-21 cultured tissue cells / R.H. Jones, M.A. Finn, J.J. Thomas, C. Folger // British Journal of Venereal Diseases. - 1976. - Vol. 52, No. 1. - P. 18-23. - DOI: 10.1136/sti.52.1.18.
23. Foster J.W. The *in vitro* cultivation of *Treponema pallidum*. Corroborative studies / J.W. Foster, D.S. Kellogg, J.W. Clark, A. Balows // British Journal of Venereal Diseases. - 1977. - Vol. 53, No. 6. - P. 338-339. - DOI: 10.1136/sti.53.6.338.
24. Fieldsteel A.H. Further studies on replication of virulent *Treponema pallidum* in tissue cultures of Sf1Ep cells / A.H. Fieldsteel, D.L. Cox, R.A. Moeckli // Infection and Immunity. - 1982. - Vol. 35, No. 2. - P. 449-455.
25. Norris S.J. Factors affecting the multiplication and subculture of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* in a tissue culture system / S.J. Norris, D.G. Edmondson // Infection and Immunity. - 1986. - Vol. 53, No. 3. - P. 534-539.
26. Edmondson D.G. Long-term *in vitro* culture of the syphilis spirochete *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* / D.G. Edmondson, B. Hu, S.J. Norris // mBio. - 2018. - Vol. 9, No. 3. - Article e01153-18. - DOI: 10.1128/mBio.01153-18.
27. Parameters affecting continuous *in vitro* culture of *Treponema pallidum* strains / D.G. Edmondson, B.D. DeLay, L.E. Kowis, S.J. Norris // mBio. - 2021. - Vol. 12, No. 1. - Article e03536-20. - DOI: 10.1128/mBio.03536-20.
28. Edmondson D.G. *In vitro* cultivation of the syphilis spirochete *Treponema pallidum* / D.G. Edmondson, S.J. Norris // Current Protocols. - 2021. - Vol. 1. - Article e44. - DOI: 10.1002/cpz1.44.

29. *In vitro* analysis of seven syphilis-causing *Treponema pallidum* strains revealed inherent growth rate differences / J. Bosak, M. Hrala, P. Andrla [et al.] // Scientific Reports. - 2025. - Vol. 15. - Article 18827. - DOI: 10.1038/s41598-025-18827-9.
30. *In vitro* isolation of contemporary *Treponema pallidum* strains directly from clinical samples of syphilis patients / J. Bosak, M. Hrala, F. Skokan [et al.] // Clinical Microbiology and Infection. - 2025. - Vol. 31, No. 6. - P. 1061-1065. - DOI: 10.1016/j.cmi.2025.03.017.
31. Directly sequenced genomes of contemporary strains of syphilis reveal recombination-driven diversity in genes encoding predicted surface-exposed antigens / L. Grillova, T. Bawa, L. Mikalova [et al.] // Frontiers in Microbiology. - 2019. - Vol. 10. - Article 1691. - DOI: 10.3389/fmicb.2019.01691.
32. Global phylogeny of *Treponema pallidum* lineages reveals recent expansion and spread of contemporary syphilis / M.A. Beale, M. Marks, M.J. Cole [et al.] // Nature Microbiology. - 2021. - Vol. 6, No. 12. - P. 1549-1560. - DOI: 10.1038/s41564-021-01000-z.
33. Enhanced molecular typing of *Treponema pallidum*: geographical distribution of strain types and association with neurosyphilis / C.M. Marra, S.K. Sahi, L.C. Tantaló [et al.] // Journal of Infectious Diseases. - 2010. - Vol. 202, No. 9. - P. 1380-1388.
34. Origin of modern syphilis and emergence of a pandemic *Treponema pallidum* cluster / N. Arora, V.J. Schuenemann, G. Jager [et al.] // Nature Microbiology. - 2016. - Vol. 2. - Article 16245. - DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.245.
35. Genomic epidemiology of syphilis reveals independent emergence of macrolide resistance across multiple circulating lineages / M.A. Beale, M. Marks, S.K. Sahi [et al.] // Nature Communications. - 2019. - Vol. 10. - Article 3255. - DOI: 10.1038/s41467-019-11216-7.
36. Characterisation of *Treponema pallidum* lineages within the contemporary syphilis outbreak in Australia: a genomic epidemiological analysis / M.L. Taouk, G. Taiaroa, S. Pasricha [et al.] // The Lancet Microbe. - 2022. - Vol. 3, No. 6. - P. e417-e426. - DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00035-0.
37. Clinical and genomic diversity of *Treponema pallidum* subspecies pallidum to inform vaccine research: an international, molecular epidemiology study / A.C. Sena, M.M. Matoga, L. Yang [et al.] // The Lancet Microbe. - 2024. - Vol. 5, No. 9. - Article 100871. - DOI: 10.1016/S2666-5247(24)00087-9.
38. Insights into *Treponema pallidum* genomics from modern and ancient genomes using a novel mapping strategy / M. Pla-Diaz, G. Akgul, M. Molak [et al.] // BMC Biology. - 2025. - Vol. 23, No. 1. - Article 7. - DOI: 10.1186/s12915-024-02108-4.
39. Integrated genomic approaches improve *Treponema pallidum* phylogenetics and lineage classification / G.S. Long, A.E. Singh [et al.] // Canadian Journal of Microbiology. - 2025. - Vol. 71. - P. 1-11. - DOI: 10.1139/cjm-2025-0021.
40. First human cell-based cultivation system for the syphilis spirochete *Treponema pallidum* / J. Bosak, M. Hrala, P. Pospisilova [et al.] // BMC Microbiology. - 2026. - Vol. 26. - Article 288. - DOI: 10.1186/s12866-026-04856-5.
41. Applications and research trends in organoid-based infectious disease models / J.O. Ryu, Y.J. Seong, E. Lee [et al.] // Scientific Reports. - 2025. - Vol. 15. - Article 25185. - DOI: 10.1038/s41598-025-07816-7.
42. Mapping the scientific output of organoids for animal and human modeling infectious diseases: a bibliometric assessment / J. Yan, A. Wiedemann [et al.] // Veterinary Research. - 2024. - Vol. 55. - Article 81. - DOI: 10.1186/s13567-024-01333-7.
43. Park G. Replacing animal testing with stem cell-organoids: advantages and limitations / G. Park, Y.A. Rim, Y. Sohn, Y. Nam, J.H. Ju // Stem Cell Reviews and Reports. - 2024. - Vol. 20, No. 6. - P. 1375-1386. - DOI: 10.1007/s12015-024-10723-5.
44. 3D engineered tissue models for studying human-specific infectious viral diseases / K.S. Hwang, J. Choi, J. Kim [et al.] // Bioactive Materials. - 2023. - Vol. 21. - P. 576-594. - DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.09.014.

45. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual / World Health Organization. - 4th ed. - Geneva : WHO, 2020. - ISBN 978-92-4-001131-1.
46. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual: Risk Assessment / World Health Organization. - Geneva : WHO, 2020.
47. Public Health Agency of Canada. Pathogen Safety Data Sheet: *Treponema pallidum* / Public Health Agency of Canada. - Updated September 27, 2024.
48. Stamm L.V. Syphilis: antibiotic treatment and resistance / L.V. Stamm // Epidemiology and Infection. - 2015. - Vol. 143, No. 8. - P. 1567-1574. - DOI: 10.1017/S0950268814002830.
49. Near-universal resistance to macrolides of *Treponema pallidum* in North America / N.A.P. Lieberman, T.B. Reid, C.A. Cannon [et al.] // New England Journal of Medicine. - 2024. - Vol. 390, No. 22. - P. 2127-2128. - DOI: 10.1056/NEJMc2314441.
50. *Treponema pallidum* macrolide resistance and molecular strain types in South Africa / J.M.E. Venter, E.E. Muller, M.P. Mahlangu [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. - 2021. - Vol. 59. - Article e02385-20.
51. Muller E.E. Macrolide resistance testing and molecular subtyping of *Treponema pallidum* strains from southern Africa / E.E. Muller, G. Paz-Bailey, D.A. Lewis // Sexually Transmitted Infections. - 2012. - Vol. 88, No. 6. - P. 470-474. - DOI: 10.1136/sextrans-2011-050322.
52. Сейдахметова Б.А., Жаппарова Г.А., Мараховская Л.Г., Теребай А.А., Наханов А.К. Масштабирование культуры клеток Vero для производства биопрепаратов // Биобезопасность и Биотехнология. - 2022. - № 9. - С. 44-52. - DOI: 10.58318/2957-5702-2022-9-44-52.
53. Бурабаев Б.К., Джекебеков К.К., Уланкызы А. [и др.]. Управление биологическими рисками в Научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности // Биобезопасность и Биотехнология. - 2020. - № 1. - С. 10-11.
54. Килибаев С.С., Таболдиев Д.Р., Джалдыбаева А.Е., Жунискулов Р.Б. Система биологической безопасности и биозащиты в НИИ // Биобезопасность и Биотехнология. - 2023. - № 14.
55. Canadian Public Health Laboratory Network National Syphilis In-Laboratory Serological Testing Recommendations / M. Morshed [et al.] // Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada. - 2025. - DOI: 10.3138/jammi-2024-0027.
56. Giacani L. The endemic treponematoses / L. Giacani, S.A. Lukehart // Clinical Microbiology Reviews. - 2014. - Vol. 27, No. 1. - P. 89-115. - DOI: 10.1128/CMR.00070-13.
57. Smajs D. Genetics of human and animal uncultivable treponemal pathogens / D. Smajs, M. Strouhal, S. Knauf // Infection, Genetics and Evolution. - 2018. - Vol. 61. - P. 92-107.
58. A defined syphilis vaccine candidate inhibits dissemination of *Treponema pallidum* subspecies pallidum / K.V. Lithgow, R. Hof, C. Wetherell [et al.] // Nature Communications. - 2017. - Vol. 8. - Article 14273.

References

1. World Health Organization. Sexually transmitted infections (STIs): strategic information. Syphilis estimates, 2022 / World Health Organization. - Geneva : WHO, 2024.
2. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016 / J. Rowley, S. Vander Hoorn, E. Korenromp [et al.] // Bulletin of the World Health Organization. - 2019. - Vol. 97, No. 8. - P. 548-562P. - DOI: 10.2471/BLT.18.228486.
3. Peeling R.W. Syphilis / R.W. Peeling, D. Mabey, M.L. Kamb, X.S. Chen, J.D. Radolf, A.S. Benzaken // Nature Reviews Disease Primers. - 2017. - Vol. 3. - Article 17073. - DOI: 10.1038/nrdp.2017.73.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Infections Surveillance, 2023 / Centers for Disease Control and Prevention. - Atlanta : CDC, 2024.

5. Sexually transmitted infections: challenges ahead / M. Unemo, C.S. Bradshaw, J.S. Hocking [et al.] // The Lancet Infectious Diseases. - 2017. - Vol. 17, No. 8. - P. e235-e279.
6. CDC Laboratory Recommendations for Syphilis Testing, United States, 2024 / J.R. Papp, I.U. Park, Y. Fakile [et al.] // MMWR Recommendations and Reports. - 2024. - Vol. 73, No. 1. - P. 1-32. - DOI: 10.15585/mmwr.rr7301a1.
7. Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete / C.M. Fraser, S.J. Norris, G.M. Weinstock [et al.] // Science. - 1998. - Vol. 281, No. 5375. - P. 375-388. - DOI: 10.1126/science.281.5375.375.
8. Weinstock G.M. The genome of *Treponema pallidum*: new light on the agent of syphilis / G.M. Weinstock, J.M. Hardham, M.P. McLeod, E.J. Sodergren, S.J. Norris // FEMS Microbiology Reviews. - 1998. - Vol. 22, No. 4. - P. 323-332.
9. Norris S.J. Biology of *Treponema pallidum*: correlation of functional activities with genome sequence data / S.J. Norris, D.L. Cox, G.M. Weinstock // Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. - 2001. - Vol. 3, No. 1. - P. 37-62.
10. Lafond R.E. Biological basis for syphilis / R.E. Lafond, S.A. Lukehart // Clinical Microbiology Reviews. - 2006. - Vol. 19, No. 1. - P. 29-49. - DOI: 10.1128/CMR.19.1.29-49.2006.
11. *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen / J.D. Radolf, R.K. Deka, A. Anand [et al.] // Nature Reviews Microbiology. - 2016. - Vol. 14, No. 12. - P. 744-759. - DOI: 10.1038/nrmicro.2016.141.
12. Radolf J.D. The *Treponema pallidum* outer membrane / J.D. Radolf, S. Kumar // Current Topics in Microbiology and Immunology. - 2018. - Vol. 415. - P. 1-38. - DOI: 10.1007/82_2017_44.
13. Structural modeling of the *Treponema pallidum* outer membrane protein repertoire / K.L. Hawley, J.M. Montezuma-Rusca, K.N. Delgado [et al.] // Journal of Bacteriology. - 2021. - Vol. 203, No. 15. - Article e00082-21.
14. *Treponema pallidum* major sheath protein homologue TprK is a target of opsonic antibody and the protective immune response / A. Centurion-Lara, C. Castro, L. Barrett [et al.] // Journal of Experimental Medicine. - 1999. - Vol. 189, No. 4. - P. 647-656.
15. Antigenic variation in *Treponema pallidum*: TprK sequence diversity accumulates in response to immune pressure during experimental syphilis / L. Giacani, B.J. Molini, E.Y. Kim [et al.] // Journal of Immunology. - 2010. - Vol. 184, No. 7. - P. 3822-3829.
16. Lukehart S.A. Isolation and laboratory maintenance of *Treponema pallidum* / S.A. Lukehart, C.M. Marra // Current Protocols in Microbiology. - 2007. - Chapter 12. - Unit 12A.1. - DOI: 10.1002/9780471729259.mc12a01s7.
17. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals / National Research Council. - 8th ed. - Washington, DC : The National Academies Press, 2011. - DOI: 10.17226/12910.
18. Fieldsteel A.H. Cultivation of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture / A.H. Fieldsteel, D.L. Cox, R.A. Moeckli // Infection and Immunity. - 1981. - Vol. 32, No. 2. - P. 908-915. - DOI: 10.1128/iai.32.2.908-915.1981.
19. Fieldsteel A.H. Prolonged survival of virulent *Treponema pallidum* (Nichols strain) in cell-free and tissue culture systems / A.H. Fieldsteel, F.A. Becker, J.G. Stout // Infection and Immunity. - 1977. - Vol. 18, No. 1. - P. 173-182. - DOI: 10.1128/iai.18.1.173-182.1977.
20. Fitzgerald T.J. *Treponema pallidum* (Nichols strain) in tissue cultures: cellular attachment, entry, and survival / T.J. Fitzgerald, J.N. Miller, J.A. Sykes // Infection and Immunity. - 1975. - Vol. 11, No. 5. - P. 1133-1140. - DOI: 10.1128/iai.11.5.1133-1140.1975.
21. Interaction of *Treponema pallidum* (Nichols strain) with cultured mammalian cells: effects of oxygen, reducing agents, serum supplements, and different cell types / T.J. Fitzgerald, R.C. Johnson, J.A. Sykes, J.N. Miller // Infection and Immunity. - 1977. - Vol. 15, No. 2. - P. 444-452. - DOI: 10.1128/iai.15.2.444-452.1977.

22. Growth and subculture of pathogenic *Treponema pallidum* (Nichols strain) in BHK-21 cultured tissue cells / R.H. Jones, M.A. Finn, J.J. Thomas, C. Folger // British Journal of Venereal Diseases. - 1976. - Vol. 52, No. 1. - P. 18-23. - DOI: 10.1136/sti.52.1.18.
23. Foster J.W. The *in vitro* cultivation of *Treponema pallidum*. Corroborative studies / J.W. Foster, D.S. Kellogg, J.W. Clark, A. Balows // British Journal of Venereal Diseases. - 1977. - Vol. 53, No. 6. - P. 338-339. - DOI: 10.1136/sti.53.6.338.
24. Fieldsteel A.H. Further studies on replication of virulent *Treponema pallidum* in tissue cultures of Sf1Ep cells / A.H. Fieldsteel, D.L. Cox, R.A. Moeckli // Infection and Immunity. - 1982. - Vol. 35, No. 2. - P. 449-455.
25. Norris S.J. Factors affecting the multiplication and subculture of *Treponema pallidum subsp. pallidum* in a tissue culture system / S.J. Norris, D.G. Edmondson // Infection and Immunity. - 1986. - Vol. 53, No. 3. - P. 534-539.
26. Edmondson D.G. Long-term *in vitro* culture of the syphilis spirochete *Treponema pallidum subsp. pallidum* / D.G. Edmondson, B. Hu, S.J. Norris // mBio. - 2018. - Vol. 9, No. 3. - Article e01153-18. - DOI: 10.1128/mBio.01153-18.
27. Parameters affecting continuous *in vitro* culture of *Treponema pallidum* strains / D.G. Edmondson, B.D. DeLay, L.E. Kowis, S.J. Norris // mBio. - 2021. - Vol. 12, No. 1. - Article e03536-20. - DOI: 10.1128/mBio.03536-20.
28. Edmondson D.G. *In vitro* cultivation of the syphilis spirochete *Treponema pallidum* / D.G. Edmondson, S.J. Norris // Current Protocols. - 2021. - Vol. 1. - Article e44. - DOI: 10.1002/cpz1.44.
29. *In vitro* analysis of seven syphilis-causing *Treponema pallidum* strains revealed inherent growth rate differences / J. Bosak, M. Hrala, P. Andrla [et al.] // Scientific Reports. - 2025. - Vol. 15. - Article 18827. - DOI: 10.1038/s41598-025-18827-9.
30. *In vitro* isolation of contemporary *Treponema pallidum* strains directly from clinical samples of syphilis patients / J. Bosak, M. Hrala, F. Skokan [et al.] // Clinical Microbiology and Infection. - 2025. - Vol. 31, No. 6. - P. 1061-1065. - DOI: 10.1016/j.cmi.2025.03.017.
31. Directly sequenced genomes of contemporary strains of syphilis reveal recombination-driven diversity in genes encoding predicted surface-exposed antigens / L. Grillova, T. Bawa, L. Mikalova [et al.] // Frontiers in Microbiology. - 2019. - Vol. 10. - Article 1691. - DOI: 10.3389/fmicb.2019.01691.
32. Global phylogeny of *Treponema pallidum* lineages reveals recent expansion and spread of contemporary syphilis / M.A. Beale, M. Marks, M.J. Cole [et al.] // Nature Microbiology. - 2021. - Vol. 6, No. 12. - P. 1549-1560. - DOI: 10.1038/s41564-021-01000-z.
33. Enhanced molecular typing of *Treponema pallidum*: geographical distribution of strain types and association with neurosyphilis / C.M. Marra, S.K. Sahi, L.C. Tantaló [et al.] // Journal of Infectious Diseases. - 2010. - Vol. 202, No. 9. - P. 1380-1388.
34. Origin of modern syphilis and emergence of a pandemic *Treponema pallidum* cluster / N. Arora, V.J. Schuenemann, G. Jager [et al.] // Nature Microbiology. - 2016. - Vol. 2. - Article 16245. - DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.245.
35. Genomic epidemiology of syphilis reveals independent emergence of macrolide resistance across multiple circulating lineages / M.A. Beale, M. Marks, S.K. Sahi [et al.] // Nature Communications. - 2019. - Vol. 10. - Article 3255. - DOI: 10.1038/s41467-019-11216-7.
36. Characterisation of *Treponema pallidum* lineages within the contemporary syphilis outbreak in Australia: a genomic epidemiological analysis / M.L. Taouk, G. Taiaroa, S. Pasricha [et al.] // The Lancet Microbe. - 2022. - Vol. 3, No. 6. - P. e417-e426. - DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00035-0.
37. Clinical and genomic diversity of *Treponema pallidum* subspecies pallidum to inform vaccine research: an international, molecular epidemiology study / A.C. Sena, M.M. Matoga, L. Yang [et al.] // The Lancet Microbe. - 2024. - Vol. 5, No. 9. - Article 100871. - DOI: 10.1016/S2666-5247(24)00087-9.

38. Insights into *Treponema pallidum* genomics from modern and ancient genomes using a novel mapping strategy / M. Pla-Diaz, G. Akgul, M. Molak [et al.] // BMC Biology. - 2025. - Vol. 23, No. 1. - Article 7. - DOI: 10.1186/s12915-024-02108-4.
39. Integrated genomic approaches improve *Treponema pallidum* phylogenetics and lineage classification / G.S. Long, A.E. Singh [et al.] // Canadian Journal of Microbiology. - 2025. - Vol. 71. - P. 1-11. - DOI: 10.1139/cjm-2025-0021.
40. First human cell-based cultivation system for the syphilis spirochete *Treponema pallidum* / J. Bosak, M. Hrala, P. Pospisilova [et al.] // BMC Microbiology. - 2026. - Vol. 26. - Article 288. - DOI: 10.1186/s12866-026-04856-5.
41. Applications and research trends in organoid-based infectious disease models / J.O. Ryu, Y.J. Seong, E. Lee [et al.] // Scientific Reports. - 2025. - Vol. 15. - Article 25185. - DOI: 10.1038/s41598-025-07816-7.
42. Mapping the scientific output of organoids for animal and human modeling infectious diseases: a bibliometric assessment / J. Yan, A. Wiedemann [et al.] // Veterinary Research. - 2024. - Vol. 55. - Article 81. - DOI: 10.1186/s13567-024-01333-7.
43. Park G. Replacing animal testing with stem cell-organoids: advantages and limitations / G. Park, Y.A. Rim, Y. Sohn, Y. Nam, J.H. Ju // Stem Cell Reviews and Reports. - 2024. - Vol. 20, No. 6. - P. 1375-1386. - DOI: 10.1007/s12015-024-10723-5.
44. 3D engineered tissue models for studying human-specific infectious viral diseases / K.S. Hwang, J. Choi, J. Kim [et al.] // Bioactive Materials. - 2023. - Vol. 21. - P. 576-594. - DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.09.014.
45. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual / World Health Organization. - 4th ed. - Geneva : WHO, 2020. - ISBN 978-92-4-001131-1.
46. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual: Risk Assessment / World Health Organization. - Geneva : WHO, 2020.
47. Public Health Agency of Canada. Pathogen Safety Data Sheet: *Treponema pallidum* / Public Health Agency of Canada. - Updated September 27, 2024.
48. Stamm L.V. Syphilis: antibiotic treatment and resistance / L.V. Stamm // Epidemiology and Infection. - 2015. - Vol. 143, No. 8. - P. 1567-1574. - DOI: 10.1017/S0950268814002830.
49. Near-universal resistance to macrolides of *Treponema pallidum* in North America / N.A.P. Lieberman, T.B. Reid, C.A. Cannon [et al.] // New England Journal of Medicine. - 2024. - Vol. 390, No. 22. - P. 2127-2128. - DOI: 10.1056/NEJMc2314441.
50. *Treponema pallidum* macrolide resistance and molecular strain types in South Africa / J.M.E. Venter, E.E. Muller, M.P. Mahlangu [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. - 2021. - Vol. 59. - Article e02385-20.
51. Muller E.E. Macrolide resistance testing and molecular subtyping of *Treponema pallidum* strains from southern Africa / E.E. Muller, G. Paz-Bailey, D.A. Lewis // Sexually Transmitted Infections. - 2012. - Vol. 88, No. 6. - P. 470-474. - DOI: 10.1136/sextrans-2011-050322.
51. Muller E.E., Paz-Bailey G., Lewis D.A. Macrolide resistance testing and molecular subtyping of *Treponema pallidum* strains from southern Africa. Sex Transm Infect. 2012;88(6):470–474. doi:10.1136/sextrans-2011-050322.
52. Seidakhmetova B.A., Zhapparova G.A., Marakhovskaya L.G., Terebai A.A., Nakhanov A.K. Masshtabirovanie kul'tury kletok Vero dlya proizvodstva biopreparatov [Scaling up Vero cell culture for the production of biological products]. Biobezopasnost' i Biotekhnologiya (Biosafety and Biotechnology). 2022;(9):44–52. doi:10.58318/2957-5702-2022-9-44-52.
53. Burabaev B.K., Dzhekebekov K.K., Ulankyzy A., et al. Upravlenie biologicheskimi riskami v Nauchno-issledovatel'skom institute problem biologicheskoi bezopasnosti [Biological risk management at the Research Institute for Biological Safety Problems]. Biobezopasnost' i Biotekhnologiya (Biosafety and Biotechnology). 2020;(1):10–11.

54. Kilibaev S.S., Taboldiev D.R., Dzhaldybaeva A.E., Zhuniskulov R.B. Sistema biologicheskoi bezopasnosti i biozashchity v NII [Biosafety and biosecurity system in the research institute]. Biobezopasnost' i Biotekhnologiya (Biosafety and Biotechnology). 2023;(14).

55. Canadian Public Health Laboratory Network National Syphilis In-Laboratory Serological Testing Recommendations / M. Morshed [et al.] // Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada. - 2025. - DOI: 10.3138/jammi-2024-0027.

56. Giacani L. The endemic treponematoses / L. Giacani, S.A. Lukehart // Clinical Microbiology Reviews. - 2014. - Vol. 27, No. 1. - P. 89-115. - DOI: 10.1128/CMR.00070-13.

57. Smajs D. Genetics of human and animal uncultivable treponemal pathogens / D. Smajs, M. Strouhal, S. Knauf // Infection, Genetics and Evolution. - 2018. - Vol. 61. - P. 92-107.

58. A defined syphilis vaccine candidate inhibits dissemination of *Treponema pallidum* subspecies pallidum / K.V. Lithgow, R. Hof, C. Wetherell [et al.] // Nature Communications. - 2017. - Vol. 8. - Article 14273.

TREPONEMA PALLIDUM-ДЫ *IN VITRO* КУЛЬТИВАЦИЯЛАУ: ҚОЯН МОДЕЛІНЕН АДАМ ЖАСУШАЛЫҚ ЖҮЙЕЛЕРІНЕ ДЕЙІН

**А.К. Наханов , С.К. Коканов *, Б.А. Еспембетов , Н.С. Сырым ,
А.А. Терейбай , Л.Г. Мараховская**

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС,
«QazBioPharm» ұлттық холдингі, Гвардейский, Қазақстан Республикасы

[*s.kokanov@biosafety.kz](mailto:s.kokanov@biosafety.kz)

Аннотация. *Treponema pallidum subsp. pallidum* - мерездің қоздырғышы болып табылатын, адам денсаулығы үшін әлеуметтік маңызы жоғары инфекциялық агент. Тиімді бактерияға қарсы емдеу әдістерінің болуына қарамастан, бұл патогеннің биологиясын зерттеу ұзақ уақыт бойы оны жасанды жағдайда тұрақты культивациялау мүмкіндігінің шектеулі болуына байланысты күрделі мәселе болып келді. Шолудың мақсаты - *T. pallidum*-ды *in vitro* культивациялау жүйелерінің дамуы туралы қазіргі деректерді жүйелеу: қоян моделінен және ерте тіндік культуралардан бастап Sf1Ep платформасына, заманауи клиникалық штаммдарды тікелей бөліп алуға және адам жасушаларына негізделген жүйелердің пайда болуына дейін. Шолуда *T. pallidum*-ды культивациялауды қиындататын биологиялық факторлар, соның ішінде геномның редукциясы, метаболизмдік мүмкіндіктердің шектеулілігі, иесі жасушасына тәуелділік және оттегіге сезімталдық қарастырылды. *T. pallidum*-ды *in vitro* культивациялау қоздырғыштың физиологиясын, иесі жасушаларымен өзара әрекеттесуін, антибиотиктерге сезімталдығын зерттеуге, жануарлар модельдеріне тәуелділікті азайтуға және биоқауіпсіз эксперименттік тәсілдерді дамытуға арналған перспективалы ғылыми-технологиялық платформа ретінде қарастырылуы тиіс.

Түйін сөздер: *Treponema pallidum*; мерез; *in vitro* культивациялау; Sf1Ep; TrCM-2; адам фибробласттары; жасуша культуралары; қоян моделі; биоқауіпсіздік; трепонемология.

IN VITRO CULTIVATION OF *TREPONEMA PALLIDUM*: FROM THE RABBIT MODEL TO HUMAN CELL-BASED SYSTEMS

A.K. Nakhanov , S.K. Kokanov *, B.A. Yespembetov , N.S. Syrym , A.A. Terebai ,
L.G. Marakhovskaya

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», National holding «QazBioPharm»,
Guardeyskiy, Republic of Kazakhstan
[*s.kokanov@biosafety.kz](mailto:s.kokanov@biosafety.kz)

Abstract. *Treponema pallidum subsp. pallidum* is the causative agent of syphilis, a socially significant human infection whose incidence continues to increase in many regions of the world. Despite the availability of effective antibacterial therapy, investigation of the biology of this pathogen has long been limited by the inability to maintain its stable growth under artificial conditions. Historically, laboratory strains of *T. pallidum* have been maintained mainly by intratesticular passage in laboratory rabbits, which is associated with bioethical, technological and regulatory limitations. The aim of this review is to systematize current data on the development of *T. pallidum in vitro* cultivation systems, from the rabbit model and early tissue cultures to the Sf1Ep platform, direct isolation of modern clinical strains and the emergence of human cell-based systems. The review discusses the biological factors that make *T. pallidum* difficult to cultivate, including genome reduction, limited metabolic capacity, dependence on host cells and oxygen sensitivity. Long-term co-cultivation with rabbit epithelial Sf1Ep cells in TpCM-2 medium is considered a key technological stage in experimental treponemology. It is concluded that *in vitro* cultivation of *T. pallidum* should be regarded as a promising scientific and technological platform for studying pathogen physiology, host-cell interactions, antimicrobial susceptibility, reduction of dependence on animal models and development of biosafe experimental approaches.

Keywords: *Treponema pallidum*; syphilis; *in vitro* cultivation; Sf1Ep; TpCM-2; human fibroblasts; cell cultures; rabbit model; biosafety; treponemology.