

Гигиена / Hygiene

Научная статья

Original article

DOI: [10.12731/2658-6649-2026-18-2-1792](https://doi.org/10.12731/2658-6649-2026-18-2-1792)

EDN: YPKHTI

УДК 579.61



Сравнительное изучение различных питательных сред для изоляции возбудителей из крови больных висцеральным лейшманиозом

А.Э. Салехов, Ш.Н. Алиева, Ф.И. Гусейнова, З.З. Абсейнова, С.Н. Эйвазли,
Ш.Н. Джанахмедова, Э.А. Исмаилова, Ш.М. Бабаева

Научно-исследовательский институт медицинской профилактики
им. В. Ахундова, Баку, Азербайджан

Аннотация

Обоснование. Лейшманиоз – трансмиссивное заболевание, вызываемое простейшими рода *Leishmania*, которые являются облигатными внутриклеточными паразитами и поражают макрофаги. Заболевание эндемично для многих тропических и субтропических стран, а также для стран Средиземноморского бассейна.

Висцеральный и кожный лейшманиоз также считаются эндемичными для Азербайджана. Вакцину против лейшманиоза до сих пор не удалось разработать. Для разработки вакцин и новых лекарственных препаратов против этого заболевания, а также для изучения биологии паразита важно получить культуру возбудителя *in vitro*. Для этого в первую очередь необходимо выделить паразитов из крови пациента.

Цель. Целью исследования было определение оптимальных питательных сред для изоляции из крови и последующего культивирования паразитов *Leishmania*.

Материалы и методы. В данном исследовании использовалась периферическая кровь 3 пациентов с висцеральным лейшманиозом, направленных из Геранбойского и Шамкирского районов Азербайджанской Республики. Образцы крови промывали, помещали в стерильные культуральные флаконы 25 см² с питательными средами, инкубировали при температуре 27°C и исследовали под инвертированным микроскопом. В процессе культивирования использовались различные питательные среды: 15% RPMI-1640, 20% DMEM-high glucose, NNN.

Результаты. На 8-9-е дни культивирования в питательной среде NNN наблюдалось 250 000 паразитов/мл, в средах RPMI-1640 и DMEM-high glucose – 450

000 и 600 000 паразитов/мл. В последующие дни развитие паразитов в среде NNN ослабевало (100 000 паразитов/мл), тогда как на других питательных средах, наоборот, усиливалось (1 100 000; 1 300 000 паразитов/мл). Питательная среда NNN может быть рекомендована для изоляции паразитов *Leishmania* из крови пациентов, а RPMI-1640 и DMEM-high glucose – как для изоляции, так и для длительного культивирования паразитов *in vitro*.

Ключевые слова: висцеральный лейшманиоз; паразиты *Leishmania*; культивирование; *in vitro*; питательные среды; RPMI-1640; DMEM-high glucose; NNN

Для цитирования. Салехов, А. Э., Алиева, Ш. Н., Гусейнова, Ф. И., Абсейнова, З. З., Эйвазли, С. Н., Джанахмедова, Ш. Н., Исмаилова, Э. А., & Бабаева, Ш. М. (2026). Сравнительное изучение различных питательных сред для изоляции возбудителей из крови больных висцеральным лейшманиозом. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 18(2), 503–521. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2026-18-2-1792>

Comparative study of various nutrition media for isolation of pathogens from the blood of patients with visceral leishmaniasis

A.E. Salekhov, Sh.N. Aliyeva, F.H. Huseynova, Z.Z. Abseyanova, S.N. Eyvazli, Sh.N. Janahmadova, E.A. Ismayilova, Sh.M. Babayeva

*Scientific Research Institute of Medical Prevention
named after V. Akhundov, Baku, Azerbaijan*

Abstract

Background. Leishmaniasis is a transmissible disease caused by protozoa of the genus *Leishmania*, which are obligate intracellular parasites that infect macrophages. The disease is endemic in many tropical and subtropical countries.

Visceral and cutaneous leishmaniasis are considered endemic to Azerbaijan. A vaccine against leishmaniasis has not yet been developed. To develop vaccines and new drugs against this disease, as well as to study the parasite's biology, it is important to cultivate the pathogen *in vitro*. This requires isolating the parasites from the patient's blood.

Purpose. The aim of investigation was to determine optimal nutrient medium for the isolation from blood and cultivation of *Leishmania* parasites.

Materials and methods. This study used peripheral blood from three patients with visceral leishmaniasis referred from the Goranboy and Shamkir districts of the Republic of Azerbaijan. Blood samples were washed by centrifuging, placed in sterile 25 cm² culture flasks with nutrient medium, incubated at 27°C, and examined with an inverted

microscope. Various nutrient medium was used: 15% RPMI-1640, 20% DMEM-high glucose, and NNN.

Results. On days 8-9 of cultivation, 250,000 parasites/mL were observed in the NNN, while 450,000 and 600,000 parasites/mL were observed in the RPMI-1640 and DMEM. In the following days, the development of parasites in the NNN weakened (100,000 parasites/mL), while in other nutrient medium, it increased (1,100,000; 1,300,000 parasites/mL). The NNN can be recommended for the isolation of *Leishmania* parasites from the blood of patients, the RPMI-1640 and DMEM-high glucose – for the isolation and long-term cultivation of parasites *in vitro*.

Keywords: visceral leishmaniasis; *Leishmania* parasites; cultivation; *in vitro*; nutrient medium; RPMI-1640; DMEM-high glucose; NNN

For citation. Salekhov, A. E., Aliyeva, Sh. N., Huseynova, F. H., Abseyanova, Z. Z., Eyvazli, S. N., Janahmadova, Sh. N., Ismayilova, E. A., & Babayeva, Sh. M. (2026). Comparative study of various nutrition media for isolation of pathogens from the blood of patients with visceral leishmaniasis. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 18(2), 503–521. <https://doi.org/10.12731/2658-6649-2026-18-2-1792>

Введение

Лейшманиоз – облигатно трансмиссивное паразитарное заболевание, вызываемое жгутиконосными простейшими рода *Leishmania* и распространённое в тропических и субтропических странах. Лейшманиоз считается вторым по смертности паразитарным заболеванием после малярии, ежегодно вызывая около 0,7 – 1 миллиона случаев заболевания и 26 000 – 65 000 смертей. Лейшманиозом инфицировано 12 миллионов человек во всем мире, а 350 миллионов находятся в зоне риска. Существует более 20 видов возбудителя этой болезни, переносчиками которого являются более 30 видов комаров [11; 15].

Лейшманиоз, считающийся эндемичным заболеванием в 98 странах мира, занимает важное место в тропической медицине. Изучение заболевания и борьба с ним отражены в специальной программе ВОЗ. Лейшманиоз включён в список «забытых» и плохо регистрируемых заболеваний в специальной стратегической программе ВОЗ по борьбе с лейшманиозом в Европейском регионе [19; 20].

Это заболевание, считающееся эндемичным в 98 странах мира, не обошло стороной и территорию Азербайджана. Заболевание регистрируется на этих территориях с XIX века, распространилось на большинство регионов нашей страны и стало серьёзной проблемой. Впервые кожный лейшманиоз был выявлен в 1862 году, а висцеральный лейшманиоз –

в 1913 году в Гяндже, Барде, Агдаше и других районах Азербайджана. До 1960 года висцеральный лейшманиоз был широко распространен во многих районах республики. В 1960 году висцеральный лейшманиоз в Азербайджане был практически ликвидирован. Однако, начиная с 1987 года, в некоторых регионах вновь регистрируются эпидемиологические вспышки висцерального лейшманиоза и наблюдается распространение заболевания [9; 16; 17].

В стране лейшманиоз официально регистрируется уже много лет. Несмотря на значительные усилия страны по борьбе с этим заболеванием, выявление новых случаев остаётся серьёзной проблемой. В настоящее время кожный и висцеральный лейшманиоз регистрируется в 46 районах Азербайджана, преимущественно в Кура-Аракской низменности, на Большом и Малом Кавказе и в Ленкоранской зоне. Распространённость инфекции зависит от географического положения страны, разнообразия животного и растительного мира, природно-климатических условий и иммунного статуса людей. В то же время, уровень знаний населения об этом заболевании и методах защиты от него крайне низок. Несмотря на развитие медицины, диагностика и лечение заболевания порой проводятся некорректно, что является актуальной проблемой для органов здравоохранения.

Как известно, для диагностики заболевания используются паразитологические, серологические, молекулярно-биологические и культуральные методы [5; 6; 10]. Культуральный метод используется, помимо диагностики заболевания, для определения видового состава возбудителей и определения их чувствительности к этиологическим препаратам. Этот метод применяется *in vivo* и *in vitro* [1; 7; 14].

Метод культивирования *in vivo* проводится на экспериментальных животных и результаты становятся известны через 2-3 недели или месяц. Следует отметить, что чувствительность экспериментальных животных к паразиту также различна. Поэтому в медицине предпочтение отдаётся методу культивирования *in vitro*. Для этого используют различные питательные среды. В условиях *in vitro* паразиты, находящиеся в макрофагах в форме амастигот трансформируются в подвижные жгутиконосцы в форме промастигот [3].

Цель исследования – стандартизация питательных сред, которые обеспечивают в короткие сроки трансформацию паразитов из амастиготной формы в промастиготную, будут полезны для выделения паразитов из крови больного человека и минимизируют изменение биологических свойств паразитов в культуре.

Материалы и методы

Паразиты рода *Leishmania* были выделены из крови людей, инфицированных висцеральным лейшманиозом. То есть источником паразита были амастиготы *Leishmania*.

В практической медицине предпочтение отдаётся простым, экономически выгодным и эффективным питательным средам [4; 8]. С учётом этого, для получения культур лейшманий нами были использованы классический метод культивирования и 3 питательные среды:

RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute)

DMEM-high glucose (Dulbecco's Modified Eagle Medium)

NNN (Novy, McNeal, Nicolle)

В лабораторных условиях питательные среды были приготовлены по принятым стандартным протоколам и полностью пригодны к использованию. При этом особое внимание уделялось составу питательных сред, а также соблюдению их стерильности. Жидкие питательные среды стерилизовали с использованием фильтров Millipore с размером пор 0,45 мкм и 0,22 мкм. Стерилизацию проводили в автоклаве при температуре 121°C в течение 15 минут и давлении 1,5 атмосфер.

Приготовление питательных сред

15% RPMI-1640 (Roswell Park Memorial Institute)

(Состав: RPMI-1640 (SigmaR), инактивированная фетальная бычья сыворотка (FBS) (SigmaR), 2 mM NaHCO₂ или 25 mM HEPES (SigmaR), антибиотик. HEPES используется для регулирования pH питательной среды. 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазин этансульфоновая кислота (мол. масса 238).

10,4 г порошка RPMI-1640, обогащённого глутамином, и 5,94 г HEPES (C₈H₁₈N₂O₄S) растворяли в 1000 мл бидистиллированной воды и фильтровали через фильтр «Millipore» с размером пор 0,22 мкм. Затем добавляли 15% FBS и 10% антибиотика (пенициллин-стрептомицин 5 000 000 ME) для приготовления полноценной питательной среды и фиксировали значение pH на уровне 7,2.

20% DMEM-high glucose (среда Eagle в модификации Dulbecco)

(Состав: DMEM-high glucose, инактивированная фетальная бычья сыворотка (FBS), антибиотик (penicilin-streptomycin)

Для приготовления полной питательной среды к DMEM с высоким содержанием глюкозы добавляли 20% FBS, 10% антибиотика и фиксировали значение pH на уровне 7,2.

NNN (Novy, McNeal, Nicolle)

(Состав: Сухой агар для культивирования (Агар-агар), хлорид натрия, бидистиллированная вода, дефибринированная кровь кролика, антибиотик).

Среда NNN готовится на основе кровяного агара Difco. Для приготовления питательной среды 14 г Агар-агар (Merck) и 6 г NaCl растворяли в 900 мл бидистиллированной воды и кипятили 2 минуты на электромагнитной мешалке. Раствор фильтровали и стерилизовали в автоклаве при температуре 121°C и давлении 1,5 атм в течение 15 минут. Стерилизованный раствор охлаждали до 45–50°C. К остывшему агару добавляли 15% дефибринированной крови кролика.

Приготовление крови кролика

Кровь, взятую из ушной вены кролика в стерильных условиях, переливали в стеклянную колбу объёмом 100 мл, содержащую стерильные стеклянные шарики, и постоянно перемешивали в течение 15–20 минут. Кровь фильтровали, добавляли к ранее приготовленному, охлаждённому до 50°C агару и перемешивали до получения однородной окраски. К агару добавляли гентамицин 80 мкг/мл и снова перемешивали. Кровяной агар переносили в стерильные конические пробирки, расположенные под углом 15°, по 2–2,5 мл и выдерживали 30–40 минут. После застывания агара его помещали в холодильник при температуре +4°C. Готовую питательную среду можно хранить в холодильнике в течение одного месяца.

Образцы крови были взяты у 3 пациентов, госпитализированных с диагнозом лейшманиоз из Геранбойского (Кура-Аракская низменность) и Шамкирского (Малый Кавказ) районов республики, и посеяны на вышеуказанные питательные среды.

Забор венозной крови

При висцеральном лейшманиозе образцы берутся из селезенки, печени, костного мозга и крови. В данном исследовании 5 мл периферической венозной крови пациента с висцеральным лейшманиозом были собраны в полипропиленовые пробирки объёмом 10 мл, содержащие антикоагулянт ЭДТА. Кровь была перенесена в пробирку и произведено центрифугирование при 750 об/мин в течение 5 минут. Верхнюю часть центрифугированной крови – плазму и buffy coat (тонкую лейкоцитарно-тромбоцитарную массу, скапливающуюся на границе плазмы и эритроцитов) – собрали и перенесли в новую пробирку. Перенесённый в новую пробирку раствор центрифугировали повторно в течение 5 минут при 1350 об/мин. На этот раз осадок со дна пробирки был собран и высеян на питательные среды.

Для ускорения выделения паразитов из крови первоначально использовали микропробирки Eppendorf объёмом 1,5 мл. Образцы крови больных висцеральным лейшманиозом, подготовленные по вышеуказанной мето-

дике, помещали в пробирки Eppendorf. К ним добавляли полноценные питательные среды (15% RPMI-1640 и 20% DMEM с высоким содержанием глюкозы) в соотношении 1:1 и выдерживали в термостате при температуре 27°C.

В зависимости от дальнейшего развития паразитов *in vitro* модифицировали режим их культивирования. Отбирали по 5 мл полной питательной среды различного состава и переносили в стерильные культуральные флаконы объёмом 25 мл с крышками (Suspension Culture Flask). Раствор из микропробирок аккуратно добавляли во флаконы. Пассажи проводили в зависимости от состояния культуры. Промастиготы подсчитывали с помощью счетной камеры Thoma.

Образцы крови, выделенные у пациентов с висцеральным лейшманиозом и подготовленные по вышеуказанной методике, были добавлены также в пробирки с питательной средой NNN.

Статистическая обработка данных проводилась методами двухфакторного дисперсионного анализа (uANOVA – test) и непараметрического критерия Фридмана (Fr). В статистическом пакете SPSS-26 различия считались статистически значимыми при $P < 0,050$ [2].

Результаты и обсуждение

В экспериментах, проведенных с питательной средой RPMI-1640, наблюдалась определенная активность развития паразитов *Leishmania*. По степени активности развития паразитов эта среда уступала среде DMEM с высоким содержанием глюкозы. Так, начиная с первых суток выделения паразитов из крови пациента (3-и сутки), количество паразитов в 1 мл достигало в среднем 200 000, а в последующие сутки увеличивалось: на 9-е сутки – 450 000, на 15-е сутки – 670 000, на 24-е сутки – 1 100 000. Начиная с 20-х суток, в культуре возбудителей *Leishmania* стали отмечаться паразиты с несколько измененной морфологией (рисунок 1).

Хотя уровень паразитемии оставался высоким, стабильно наблюдались малоподвижные паразиты. В дальнейшие недели в культуре преобладали атипичные паразиты, наблюдались локальные скопления промастигот и как результат - снижение паразитемии.

Паразиты, инокулированные в среду DMEM с высоким содержанием глюкозы, демонстрировали более активный рост. Среднее количество паразитов в 1 мл на 3-й день культивирования составило 300 000, на 9-й день – 600 000, на 15-й день – 700 000 и на 24-й день – 1 300 000. Атипичных паразитов в данной культуре обнаружено не было (рисунок 1).

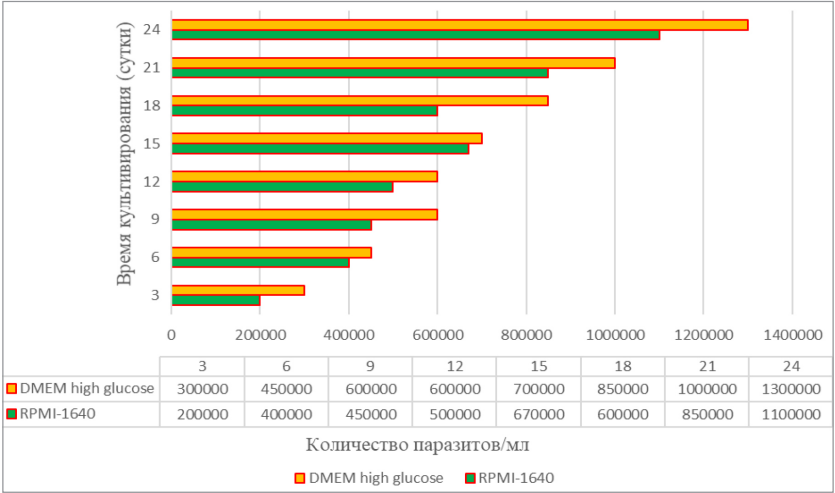


Рис. 1. Динамика развития паразитов *Leishmania* в питательных средах RPMI-1640 и DMEM-high glucose

Fig. 1. Growth kinetics of *Leishmania* parasites in RPMI-1640 and DMEM-high glucose culture media

По результатам двухфакторного дисперсионного анализа (uANOVA – test) обнаружено влияние факторов «сутки» ($P_F < 0,001$), «питательные среды» ($P_F = 0,002$), а также их обоюдное влияние на результат ($P_F < 0,001$) (таблицы 1, 2).

Таблица 1.

Описательная статистика
Table 1. Descriptive Statistics

Dependent Variable: Изолят				
Сутки	Группы	Mean	Std. Deviation	N
3	RPMI-1640	200000,00	50000,000	3
	DMEM	300000,00	52915,026	3
	Total	250000,00	71554,175	6
6	RPMI-1640	400000,00	25000,000	3
	DMEM	450000,00	13228,757	3
	Total	425000,00	32710,854	6
9	RPMI-1640	433333,33	29297,326	3
	DMEM	600000,00	29051,678	3
	Total	516666,67	94943,492	6

12	RPMĬ-1640	500000,00	31224,990	3
	DMEM	600000,00	30805,844	3
	Total	550000,00	61397,068	6
15	RPMĬ-1640	669666,67	31785,741	3
	DMEM	700000,00	20000,000	3
	Total	684833,33	28985,629	6
18	RPMĬ-1640	600000,00	45825,757	3
	DMEM	850000,00	22912,878	3
	Total	725000,00	140712,473	6
21	RPMĬ-1640	750000,00	17088,007	3
	DMEM	1000000,00	20223,748	3
	Total	875000,00	137950,716	6
24	RPMĬ-1640	1100000,00	66143,783	3
	DMEM	1300000,00	70000,000	3
	Total	1200000,00	125339,539	6
Total	RPMĬ-1640	581625,00	260664,838	24
	DMEM	725000,00	305884,605	24
	Total	653312,50	290320,524	48

Таблица 2.

Оценочные предельные средние**Table 2.** Estimated Marginal Means**1. Сутки**

Dependent Variable: Изолят

Сутки	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
3	250000,000	15724,737	217969,758	282030,242
6	425000,000	15724,737	392969,758	457030,242
9	516666,667	15724,737	484636,425	548696,908
12	550000,000	15724,737	517969,758	582030,242
15	684833,333	15724,737	652803,092	716863,575
18	725000,000	15724,737	692969,758	757030,242
21	875000,000	15724,737	842969,758	907030,242
24	1200000,000	15724,737	1167969,758	1232030,242

2. Группы

Dependent Variable: Изолят

Группы	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
RPMĬ-1640	581625,000	7862,369	565609,879	597640,121
DMEM	725000,000	7862,369	708984,879	741015,121

3. Сутки * Группы

Dependent Variable: Изолят

Сутки	Группы	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
3	RPMi-1640	200000,000	22238,137	154702,398	245297,602
	DMEM	300000,000	22238,137	254702,398	345297,602
6	RPMi-1640	400000,000	22238,137	354702,398	445297,602
	DMEM	450000,000	22238,137	404702,398	495297,602
9	RPMi-1640	433333,333	22238,137	388035,731	478630,935
	DMEM	600000,000	22238,137	554702,398	645297,602
12	RPMi-1640	500000,000	22238,137	454702,398	545297,602
	DMEM	600000,000	22238,137	554702,398	645297,602
15	RPMi-1640	669666,667	22238,137	624369,065	714964,269
	DMEM	700000,000	22238,137	654702,398	745297,602
18	RPMi-1640	600000,000	22238,137	554702,398	645297,602
	DMEM	850000,000	22238,137	804702,398	895297,602
21	RPMi-1640	750000,000	22238,137	704702,398	795297,602
	DMEM	1000000,000	22238,137	954702,398	1045297,602
24	RPMi-1640	1100000,000	22238,137	1054702,398	1145297,602
	DMEM	1300000,000	22238,137	1254702,398	1345297,602

Рост паразитов *Leishmania*, инокулированных в среду NNN, был слабее, чем на двух вышеупомянутых средах. Только на 4-й день количество паразитов в 1 мл культуры второго изолята достигло 80 000. На 8-й день наблюдался некоторый рост во всех 3 изолятах, при этом в культуре второго изолята было 250 000 паразитов/мл. В последующие дни рост паразитов был слабее (рисунок 2).

$$P_{Fr} = 0,019.$$

Демонстрация промастигот путем их размножения в среде – это быстрый, простой и недорогой метод. Двухфазная среда NNN (Novu-McNeal-Nicolle), созданная в 1904 году, долгое время использовалась для кратковременной культивации паразитов *Leishmania*. Развитие промастигот на питательной среде NNN является золотым стандартом лабораторной диагностики [3; 12; 13; 18]. В работе некоторых авторов представлены экспериментальные данные о возможности использования дефибрированной крови кур, быков, лошадей и овец в качестве замены дефибрированной крови кроликов в качестве ингредиента для приготовления питательной среды NNN [18]. Ladopoulos, Т. И другие в своих исследова-

ниях использовали кровь разных животных (лошади, осла, козы и овцы). В ходе исследования козья кровь оказалась самой неудовлетворительной, а лошадиная кровь оправдала надежды. Этот результат может быть объяснен тем, что *Leishmania* является ауксотрофом по никотинамидадениндинуклеотиду (НАД), а лошадиные эритроциты поддерживают НАД-зависимые микроорганизмы [12].

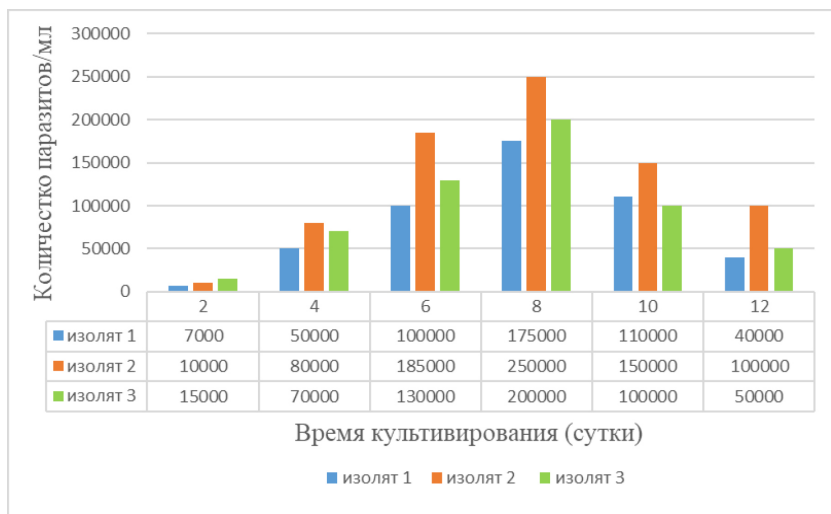


Рис. 2. Динамика роста 3 изолятов паразитов *Leishmania* на питательной среде NNN

Fig. 2. Growth dynamics of three *Leishmania* parasite isolates on NNN culture medium

Независимо от выбранного источника эритроцитов, питательная среда NNN подходит только для выделения лейшманий из крови пациентов, она не может обеспечить их дальнейшее беспрерывное развитие в культуре. Среду, использованную на начальном этапе, далее следует заменить на другую. Можно предположить, что среда NNN не может удовлетворить потребности лейшманий в питательных веществах в культуре.

Питательная среда DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) изначально разработана для поддержания роста и размножения фибробластов и клеточных линий (HeLa, 293, Cos-7). Является модификацией среды Dulbecco - Eagle и отличается богатым составом. Содержание витаминов, аминокислот и минеральных солей в этой питательной среде в 4 раза выше, чем в среде Eagle.

Питательная среда RPMI-1640 изначально была разработана для культивирования клеток крови, преимущественно лимфоцитов. Её состав также достаточно богат и включает витамины, аминокислоты, глюкозу, неорганические соли. Главной особенностью этой среды является наличие биотина, глутатиона, витамина B12, холина и высокой концентрации инозитола.

Паразитам *Leishmania* требуются определенные витамины для выживания и размножения, особенно витамины группы B, которые играют ключевую роль в метаболизме. Нужда в этих витаминах обусловлена метаболическими потребностями в клетках хозяина и внутри переносчиков (москитов). Витамины, играющие важную роль в метаболизме паразитов следующие:

Тиамин (метаболизм углеводов)

Рибофлавин (энергетические процессы)

Ниацин (синтез коферментов – НАД)

Пантотеновая кислота (синтез кофермента А)

Фолиевая кислота и кобаламин (синтез нуклеотидов)

Биотин является коферментом, необходим для метаболизма жиров, белков и углеводов.

Глюкоза является источником энергии для клеток. Аминокислоты (глутамин, аргинин, аспарагин и др.) необходимы для синтеза белка. Неорганические соли (хлорид натрия, бикарбонат натрия, хлорид калия и др.) регулируют солевой баланс. Бикарбонат натрия также контролирует pH. Функция глутатиона — защита клеток [13].

В нашем эксперименте паразиты *Leishmania* развивались и адаптировались к условиям культивирования *in vitro* на питательных средах RPMI-1640 и DMEM-high glucose. Эти среды подходят как для изоляции паразитов из крови пациента, так и для их культивирования. Более интенсивное развитие возбудителей на среде DMEM с высоким содержанием глюкозы и полное отсутствие атипичных паразитов дают основание отдать предпочтение этой питательной среде.

Заключение

1. Исследование выявило, что питательная среда NNN эффективна для выделения паразитов *Leishmania* из крови больного, но она не подходит для длительного культивирования возбудителей.

2. Для изоляции паразитов *Leishmania* из крови пациентов и их дальнейшего культивирования можно рекомендовать питательную среду RPMI-1640. Однако начиная с 20-х суток, в культуре возбудителей стали

отмечаться паразиты с измененной морфологией. Эта питательная среда может обеспечить кратковременное культивирование паразитов.

3. Для изоляции паразитов из крови пациентов с целью культивирования рекомендуем также питательную среду DMEM с высоким содержанием глюкозы. В данной культуре проводились все требуемые манипуляции: замена питательной среды, пассирование, криоконсервирование. За период культивирования атипичных паразитов обнаружено не было. Питательная среда подходит для длительного культивирования паразитов *Leishmania*.

Список литературы

1. Аллахвердиев, А. М., & Багирова, М. И. (2023). *Эпидемиология, диагностика, лечение и профилактика лейшманиоза*. Зардаби. 128 стр.
2. Джафаров, И. А. (2025). *Биостатистика*. Табиб. 250 стр. ISBN 978-9952-39-330-9.
3. Алиева, Ш. Н., Гусейнова, Ф. И., & Абсейнова, З. З. (2025). Сравнительное изучение развития *in vitro* паразитов *Leishmania* в различных питательных средах. *Scientific Research International Scientific Journal*, 5(2), 113–117. <https://doi.org/10.36719/2789-6919/42/113-117>
4. Castelli, G., Galante, A., Lo Verde, V. et al. (2014). Evaluation of two modified culture media for *Leishmania infantum* cultivation versus different culture media. *J Parasitol*, 100(2), 228–230. <https://doi.org/10.1645/13-253.1>
5. Chavush, I., Aksoy, T., Yildirim, A. et al. (2022). Could RPMI-1640 Medium be Used in the Diagnosis and Isolation of Cutaneous Leishmaniasis Lacking NNN Medium? *Turkish Journ of Parasitol*, 46(3), 249–252. <https://turkiyeparazitolderg.org/articles/doi/tpd.galenos.2022.27247>
6. Chouihi, E., Amri, F., Bouslimi, N. et al. (2009). Cultures on NNN medium for the diagnosis of leishmaniasis. *Pathol Biol*, 57(3), 219–224. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2008.03.007>. EDN: <https://elibrary.ru/MCPRBR>
7. Echchakery, M., Chicharro, C., Boussaa, S. et al. (2020). Molecular identification of *Leishmania tropica* and *L. infantum* isolated from cutaneous human leishmaniasis samples in central Morocco. *J Vector Borne Dis*, 57(1), 71–77. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.308804>. EDN: <https://elibrary.ru/INPHVT>
8. Fang-Zhou, C., Yue-Tao, Y., Chun-Hua, G., & Jun-Yun, W. (2019). Observation on growth and reproduction of various *Leishmania* isolates in different culture media. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi*, 31(3), 294–298. <https://doi.org/10.16250/j.32.1374.2018180>
9. Gadzhibekova, E., Aliyeva, N., & Huseynova, F. (2018). The epidemiology of leishmaniasis in the Barda region of Azerbaijan. *Scientific works of the Research Medical Preventive Institute*, 11, 103–107.

10. Gokmen, A. A., Oncel, K., & Ozdemir, O.A. (2015). An alternative biphasic nutrient medium for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *Mikrobiol Bul*, 49(2), 266–271. <https://doi.org/10.5578/mb.8913>
11. Kwang, P.C. (2023). Leishmania and Leishmaniasis Research: The Past 50 Years and the Future. *Pathogens*, 12(6), 776. <https://doi.org/10.3390/pathogens12060776>. EDN: <https://elibrary.ru/ZIAUKX>
12. Ladopoulos, T., Ntais, P., Tsirigotakis, N. et al. (2015). The proliferation potential of promastigotes of the main Leishmania species of the old world in NNN culture medium prepared using blood of four different mammals. *Exp Parasitol*, 157, 124–127. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2015.07.008>
13. Limoncu, M.E., Ozbilgin, A., Balcioglu, I.C., & Ozbek, Y. (2004). Evaluation of three new culture media for the cultivation and isolation of Leishmania parasites. *J Basic Microbiol*, 44(3), 197–202. <https://doi.org/10.1002/jobm.200310367>
14. Mohammadpour, I., Motazedian, M.H., Handjani, F., & Hatam, G.R. (2016). Cutaneous Leishmaniasis of the Eyelids: A Case Series with Molecular Identification and Literature Review. *Korean J Parasitol*, 54(6), 787–792. <https://doi.org/10.3347/kjp.2016.54.6.787>
15. Ozbilgin, A., Chulha, G., Uzun, S. et al. (2016). Leishmaniasis in Turkey: first clinical isolation of Leishmania major from 18 autochthonous cases of cutaneous leishmaniasis in four geographical regions. *Trop Med Int Health*, 21(6), 783–791. <https://doi.org/10.1111/tmi.12698>. EDN: <https://elibrary.ru/WTTLFN>
16. Salekhov, A.E., & Mamedov, M.G. (2022). The role of parasitic diseases in the pathology of Azerbaijan and their prediction for the near future. *Modern achievements of Azerbaijani medicine*, (3), 62–66.
17. Salekhov, A.E., Shikhaliyeva, Sh.T., Huseynova, F.I., & Gadzhibeyova, E.A. (2022). Dynamics of visceral leishmaniasis in the population of the Republic of Azerbaijan. *Nature and Science*, (6), 6–10.
18. Santos, R.C.D., Pinho, F.A., Passos, G.P. et al. (2018). Isolation of naturally infecting Leishmania infantum from canine samples in Novy-MacNeal-Nicolle medium prepared with defibrinated blood from different animal species. *Vet Parasitol*, (257), 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.05.010>
19. WHO. (2018). *Manual on case management and surveillance of the leishmaniases in the WHO European Region*. 1–13.
20. World Health Organization (WHO). (2020). *Leishmaniasis*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>

References

1. Allahverdiev, A. M., & Bagirova, M. I. (2023). *Epidemiology, diagnosis, treatment and prevention of leishmaniasis*. Baku: Zardabi. 128 p.

2. Jafarov, I. A. (2025). *Biostatistics*. Baku: Tabib. 250 p. ISBN 978-9952-39-330-9.
3. Alieva, Sh. N., Guseynova, F. I., & Abseynova, Z. Z. (2025). Comparative study of in vitro development of Leishmania parasites in various culture media. *Scientific Research International Scientific Journal*, 5(2), 113–117. <https://doi.org/10.36719/2789-6919/42/113-117>
4. Castelli, G., Galante, A., Lo Verde, V. et al. (2014). Evaluation of two modified culture media for Leishmania infantum cultivation versus different culture media. *J Parasitol*, 100(2), 228–230. <https://doi.org/10.1645/13-253.1>
5. Chavush, I., Aksoy, T., Yıldırım, A. et al. (2022). Could RPMI-1640 Medium be Used in the Diagnosis and Isolation of Cutaneous Leishmaniasis Lacking NNN Medium? *Turkish Journ of Parasitol*, 46(3), 249–252. <https://turkiyeparazitolderg.org/articles/doi/tpd.galenos.2022.27247>
6. Chouih, E., Amri, F., Bouslimi, N. et al. (2009). Cultures on NNN medium for the diagnosis of leishmaniasis. *Pathol Biol*, 57(3), 219–224. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2008.03.007>. EDN: <https://elibrary.ru/MCPRBR>
7. Echchakery, M., Chicharro, C., Boussaa, S. et al. (2020). Molecular identification of Leishmania tropica and L. infantum isolated from cutaneous human leishmaniasis samples in central Morocco. *J Vector Borne Dis*, 57(1), 71–77. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.308804>. EDN: <https://elibrary.ru/INPHVT>
8. Fang-Zhou, C., Yue-Tao, Y., Chun-Hua, G., & Jun-Yun, W. (2019). Observation on growth and reproduction of various Leishmania isolates in different culture media. *Zhongguo Xue Xi Chong Bing Fang Zhi Za Zhi*, 31(3), 294–298. <https://doi.org/10.16250/j.32.1374.2018180>
9. Gadzhibekova, E., Aliyeva, N., & Huseynova, F. (2018). The epidemiology of leishmaniasis in the Barda region of Azerbaijan. *Scientific works of the Research Medical Preventive Institute*, 11, 103–107.
10. Gokmen, A. A., Oncel, K., & Ozdemir, O. A. (2015). An alternative biphasic nutrient medium for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis. *Mikrobiol Bul*, 49(2), 266–271. <https://doi.org/10.5578/mb.8913>
11. Kwang, P. C. (2023). Leishmania and Leishmaniasis Research: The Past 50 Years and the Future. *Pathogens*, 12(6), 776. <https://doi.org/10.3390/pathogens12060776>. EDN: <https://elibrary.ru/ZIAUKX>
12. Ladopoulos, T., Ntais, P., Tsirigotakis, N. et al. (2015). The proliferation potential of promastigotes of the main Leishmania species of the old world in NNN culture medium prepared using blood of four different mammals. *Exp Parasitol*, 157, 124–127. <https://doi.org/10.1016/j.exppara.2015.07.008>
13. Limoncu, M. E., Ozbilgin, A., Balcioglu, I. C., & Ozbel, Y. (2004). Evaluation of three new culture media for the cultivation and isolation of Leishmania parasites. *J Basic Microbiol*, 44(3), 197–202. <https://doi.org/10.1002/jobm.200310367>

14. Mohammadpour, I., Motazedian, M. H., Handjani, F., & Hatam, G. R. (2016). Cutaneous Leishmaniasis of the Eyelids: A Case Series with Molecular Identification and Literature Review. *Korean J Parasitol*, 54(6), 787–792. <https://doi.org/10.3347/kjp.2016.54.6.787>
15. Ozbilgin, A., Chulha, G., Uzun, S. et al. (2016). Leishmaniasis in Turkey: first clinical isolation of *Leishmania major* from 18 autochthonous cases of cutaneous leishmaniasis in four geographical regions. *Trop Med Int Health*, 21(6), 783–791. <https://doi.org/10.1111/tmi.12698>. EDN: <https://elibrary.ru/WTTLFN>
16. Salekhov, A. E., & Mamedov, M. G. (2022). The role of parasitic diseases in the pathology of Azerbaijan and their prediction for the near future. *Modern achievements of Azerbaijani medicine*, (3), 62–66.
17. Salekhov, A. E., Shikhaliyeva, Sh. T., Huseynova, F. I., & Gadzhibeyova, E. A. (2022). Dynamics of visceral leishmaniasis in the population of the Republic of Azerbaijan. *Nature and Science*, (6), 6–10.
18. Santos, R. C. D., Pinho, F. A., Passos, G. P. et al. (2018). Isolation of naturally infecting *Leishmania infantum* from canine samples in Novy-MacNeal-Nicolle medium prepared with defibrinated blood from different animal species. *Vet Parasitol*, (257), 10–14. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.05.010>
19. WHO. (2018). *Manual on case management and surveillance of the leishmaniases in the WHO European Region*. 1–13.
20. World Health Organization (WHO). (2020). *Leishmaniasis*. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>

ВКЛАД АВТОРОВ

Салехов А.Э.: концепция исследования, научное руководство, статистическая обработка данных, окончательное одобрение версии для публикации.

Алиева Ш.Н.: написание первоначального варианта статьи.

Гусейнова Ф.И.: ответственность за целостность работы и проверку точности данных.

Джанахмедова Ш.Н.: анализ и интерпретация полученных данных.

Абсейнова З.З., Эйвазли С.Н.: сбор данных, экспериментальная часть исследования.

Исмаилова Э.А.: редактирование и критический пересмотр рукописи.

Бабаева Ш.М.: разработка дизайна исследования.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Akif E. Salekhov: conceptualization, supervision, statistical analysis, final approval of the version to be published.

Shahla N. Aliyeva: writing – original draft.

Fatma H. Huseynova: accountability for all aspects of the work, validation of data accuracy and integrity.

Shahla N. Janahmadova: data analysis and interpretation.

Zivar Z. Abseyanova, Sevinj N. Eyvazli: investigation, data collection, experimental work.

Elgun A. Ismayilova: writing – review & editing.

Shalala M. Babayeva: contributed to the methodology and study design.

ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ

Салехов Акиф Эйюб оглы, доктор медицинских наук, зав. отделением Паразитарных и тропических болезней

Научно-исследовательский институт медицинской профилактики им. В. Ахундова

ул. М. Топчубашов, 216, г. Баку, AZ1000, Азербайджан

akif.salehov@mail.ru

Алиева Шахла Нихан кызы, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории Протозоологии

Научно-исследовательский институт медицинской профилактики им. В. Ахундова

ул. М. Топчубашов, 216, г. Баку, AZ1000, Азербайджан

shahlaaliyeva1969@gmail.com

Гусейнова Фатма Идаят кызы, кандидат медицинских наук, зав. лабораторией Протозоологии

Научно-исследовательский институт медицинской профилактики им. В. Ахундова

ул. М. Топчубашов, 216, г. Баку, AZ1000, Азербайджан

huseynova01049@gmail.com

Абсейнова Зивар Заур кызы, научный сотрудник лаборатории Протозоологии

Научно-исследовательский институт медицинской профилактики им. В. Ахундова

ул. М. Топчубашов, 216, г. Баку, AZ1000, Азербайджан

ziver.abseyanova@mail.ru

Эйвазли Севиндж Нариман кызы, научный сотрудник лаборатории Протозоологии

Научно-исследовательский институт медицинской профилактики им. В. Ахундова

ул. М. Топчубашов, 216, г. Баку, AZ1000, Азербайджан

sevincesgerova122@gmail.com

Джанахмедова Шахла Нурахмед кызы, кандидат медицинских наук, доцент,
старший научный сотрудник лаборатории Гельминтологии
*Научно-исследовательский институт медицинской профилактики им.
В. Ахундова*
ул. М. Топчубашов, 216, г. Баку, AZ1000, Азербайджан
janahmedova@mail.ru

Исмаилова Эльгюн Аланмед кызы, научный сотрудник лаборатории Энтомологии
*Научно-исследовательский институт медицинской профилактики им.
В. Ахундова*
ул. М. Топчубашов, 216, г. Баку, AZ1000, Азербайджан
elgunmanafova26@gmail.com

Бабаева Шалала Машадага кызы, научный сотрудник отделения Иммунологии
*Научно-исследовательский институт медицинской профилактики им.
В. Ахундова*
ул. М. Топчубашов, 216, г. Баку, AZ1000, Азербайджан
selale.babayeva.66@mail.ru

DATA ABOUT THE AUTHORS

Akif E. Salekhov, Doctor of Medicine, Head of the Department of Parasitic and Tropical Diseases
Scientific Research Institute of Medical Prevention named after V. Akhundov
216, M. Topchubashov Str., Baku, AZ1000, Azerbaijan
akif.salehov@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-8132-7823>
ResearcherID: JYV-9188-2024

Shahla N. Aliyeva, PhD in Biology, Senior Researcher of the Protozoology Laboratory
Scientific Research Institute of Medical Prevention named after V. Akhundov
216, M. Topchubashov Str., Baku, AZ1000, Azerbaijan
shahlaaliyeva1969@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-6971-4679>
ResearcherID: JYV-9756-2024

Fatma H. Huseynova, PhD in Medicine, Head of the Protozoology Laboratory
Scientific Research Institute of Medical Prevention named after V. Akhundov
216, M. Topchubashov Str., Baku, AZ1000, Azerbaijan
huseynova01049@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-6805-2302>
ResearcherID: JYJ-9142-2024

Zivar Z. Abseynova, Researcher of the Protozoology Laboratory
Scientific Research Institute of Medical Prevention named after V. Akhundov
216, M. Topchubashov Str., Baku, AZ1000, Azerbaijan
ziver.abseynova@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-1366-0896>
ResearcherID: JVZ-4094-2024

Sevinj N. Eyvazli, Researcher of the Protozoology Laboratory
Scientific Research Institute of Medical Prevention named after V. Akhundov
216, M. Topchubashov Str., Baku, AZ1000, Azerbaijan
sevincsgerova122@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0005-5045-3176>
ResearcherID: JYV-8917-2024

Shahla N. Janahmadova, PhD in Medicine, Associate Professor, Senior Researcher of the Helminthology Laboratory
Scientific Research Institute of Medical Prevention named after V. Akhundov
216, M. Topchubashov Str., Baku, AZ1000, Azerbaijan
janahmedova@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-3778-4839>
ResearcherID: JYV-8422-2024

Elgun A. Ismayilova, Researcher of the Entomology Laboratory
Scientific Research Institute of Medical Prevention named after V. Akhundov
216, M. Topchubashov Str., Baku, AZ1000, Azerbaijan
elgunmanafova26@gmail.com
ORCID: <https://orcid.org/0009-0009-0829-2881>
ResearcherID: JVZ-4991-2024

Shalala M. Babayeva, Researcher of the Department of Immunology
Scientific Research Institute of Medical Prevention named after V. Akhundov
216, M. Topchubashov Str., Baku, AZ1000, Azerbaijan
selale.babayeva.66@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8530-078X>
ResearcherID: JYV-8428-2024

Поступила 11.12.2025

После рецензирования 15.01.2026

Принята 19.01.2026

Received 11.12.2025

Revised 15.01.2026

Accepted 19.01.2026