

ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Гетероморфизм клеточной персистенции возбудителей сапронозов в различных условиях среды обитания

Сомова Л.М.[✉], Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н.

ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, 690087, Владивосток, Россия

В работе обсуждаются вопросы морфофункциональной изменчивости возбудителей сапронозов в стрессовых условиях среды обитания. В текущем столетии сапронозные инфекции привлекают все большее внимание. При неблагоприятных условиях обитания их возбудители используют стратегию формирования покоящихся (устойчивых) состояний: жизнеспособных, но некультивируемых клеточных форм и персистентных бактерий, которые характеризуются сниженным метаболизмом, изменением морфологии и физиологии микроорганизмов, прекращением их репликации. С образованием устойчивых форм бактерий связывается возможность выживания возбудителей сапронозов в межэпидемический период, формирование их антибиотикорезистентности, что играет важную роль в хронизации инфекций. В литературе широко обсуждаются механизмы и условия формирования устойчивых состояний патогенных бактерий, их патогенетическое значение в инфекционной патологии, тогда как ультраструктурная организация и морфологическая вариабельность устойчивых клеточных форм, а также их дифференциация, обуславливающая гетерогенность популяции возбудителей, до настоящего времени освещены недостаточно. На основании анализа современных данных, а также имеющегося собственного опыта авторы оценивают морфофункциональные изменения устойчивых клеточных форм у бактерий и их значение в адаптационных стратегиях возбудителей сапронозов.

Ключевые слова: сапронозы; морфология; ультраструктура и адаптивные изменения возбудителей; жизнеспособные, но некультивируемые (VBNC) формы бактерий; клетки-персистеры.

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н. Гетероморфизм клеточной персистенции возбудителей сапронозов в различных условиях среды обитания. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* 2020; 97(1): 62–71.

DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-62-71>

Поступила 09.04.2019

Принята в печать 18.12.2019

Heteromorphism of Persistence of Sapronosis Causative Agents in Cells in Various Environmental Conditions

Larisa M. Somova[✉], Boris G. Andryukov, Irina N. Lyapun

Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok 690087, Russia

The paper discusses the issues of morphofunctional variability of sapronoses pathogens in stressful environment. In the current century, sapronoses infections attract increasing attention. Under unfavorable environmental conditions the pathogens use the strategy for the formation of resting (stable) states, that is: viable but non-culturable cell formes and persistent bacteria, which are characterized by reduced metabolism and changes in the morphology and physiology of the microorganisms, termination of replication. Possibility of sapronoses pathogens survival in interepidemic period and antibiotic resistance formation, which play an important role in chronic infections, are associated with the formation of persistent forms of bacteria. The literature extensively discusses mechanisms and conditions of the pathogenic bacteria stable states formation and their pathogenetic contribution to infectious pathology, whereas ultrastructural organization and morphological variability of persistent cell forms, as well as their differentiation, causing the pathogens population heterogeneity, is still insufficiently illuminated.

Based on the analysis of current data and their own experience, the authors evaluate the morphological and functional changes of bacteria stable cellular forms and their role in sapronoses pathogens adaptation strategies.

Keywords: sapronoses; morphology; ultrastructure and adaptive changes of pathogens; viable but non-culturable cells; persister-cells.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Conflict of interest. The authors declare no apparent or potential conflicts of interest related to the publication of this article.

For citation: Somova L.M., Andryukov B.G., Lyapun I.N. Heteromorphism of Persistence of Sapronosis Causative Agents in Cells in Various Environmental Conditions. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology, Russian journal*. 2020; 97(1): 62–71. (In Russ.).
DOI: <https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-1-62-71>

Received 9 April 2019
Accepted 18 December 2019

Введение

К концу XX в. накопились новые сведения об адаптационных механизмах возбудителей инфекционных заболеваний и стратегиях их существования в неблагоприятных условиях среды обитания. В значительной степени это относится к возбудителям сапронозов, способным обитать как в организме человека и теплокровных животных, так и в объектах окружающей среды.

В соответствии с парадигмой межэпидемического существования возбудителей сапронозных инфекций выделяют две фазы их существования: сапрофитическую и паразитическую [1–4]. Несмотря на длительный период изучения этой группы бактерий, появляется все больше сведений об их разнообразных адаптационных стратегиях, лежащих в основе экологической пластичности данных микроорганизмов.

В конце XX в. были охарактеризованы устойчивые («спящие») клеточные формы у неспорообразующих возбудителей сапронозов, обитающих в почвах и водоемах, жизнеспособные, но некультивируемые клетки (от англ. «viable but non-culturable», VBNC), а также бактериальные клетки-персистеры (от англ. «persister» — устойчивый) в организме теплокровных животных и людей [5–9].

Специфическая особенность устойчивых клеточных форм бактерий заключается в их низкой метаболической и репликативной активности, что затрудняет их обнаружение традиционными микробиологическими методами [10–13]. Эти формы имеют большое значение в реализации биологических свойств многочисленной и разнообразной группы возбудителей сапронозов: экологической пластичности, многообразии форм устойчивости к внешним стрессорам, формировании резистентности к антибиотикам и другим антибактериальным средствам [1, 13–15].

В последние годы всплеск научного интереса к устойчивым формам возбудителей инфекций связан с возрастающим медико-эпидемиологическим значением феномена устойчивых клеточных форм и морфологической близостью с уже изученным и хорошо охарактеризованным феноменом — L-трансформацией бактерий [16, 17].

Кроме того, развитие методов молекулярно-клеточной биологии и недавнее открытие генетических модулей токсин-антитоксиновых систем (toxin-antitoxin systems, TAS) раскрыли единый механизм регуляции образования устойчивых клеточных форм бактерий [18–20]. Это послужило

основанием для разработки принципиально новых технологий исследования механизмов сохранения патогенного потенциала устойчивых клеточных форм возбудителей природно-очаговых сапронозов в межэпидемические периоды [15, 21–23].

Пограничное положение этой своеобразной и обширной группы бактерий, способных как к паразитическому, так и к сапрофитическому существованию, обусловило недостаточную изученность путей и способов резервации возбудителей, а также дальнейшее изучение морфологических признаков устойчивых клеточных форм, обуславливающих гетерогенность популяций [2, 24–26]. Возможно, раскрытие специфических морфофункциональных признаков устойчивых форм бактерий станет недостающим звеном в изучении общих стратегий выживания возбудителей природно-очаговых сапронозов как в организме человека и животных, так и во внешней среде.

Цель настоящего сообщения — провести анализ имеющихся данных и новых сведений о морфофункциональных изменениях устойчивых клеточных форм у бактерий и их значении в адаптационных стратегиях возбудителей сапронозов.

Ультроструктурная организация бактерий

Не вызывает сомнения, что ультроструктурная организация патогенов характеризует физиологическое состояние бактериальных клеток в разных условиях обитания. Длительное время представления о морфологии бактерий базировались на данных, полученных при их культивировании в термостате при температуре 37°C [27, 28], что характеризовало состояние возбудителей лишь в теплокровном организме человека или животного. Проведенное нами изучение ультроструктуры возбудителей сапрозоонозов (*Yersinia pseudotuberculosis*, *Listeria monocytogenes*) в различных трофических и температурных условиях культивирования [28] позволило идентифицировать их морфофункциональное состояние не только в паразитическую фазу существования, но и в сапрофитическую фазу — при обитании в окружающей среде. Морфологические изменения бактерий оценивали при их периодическом культивировании и при длительном обитании в почве. Срок наблюдения составил 2 года для почвенных и 40 сут для периодических культур бактерий.

Как известно, периодическая культура микроорганизмов фактически является моделью, приближенной к природным условиям, т.к. в любой ее фазе бактерии находятся в состоянии перестройки свое-

го метаболизма в соответствии с меняющимися параметрами среды обитания [1, 29]. В наших экспериментах [28] при периодическом культивировании бактерий использованы среда, богатая питательными веществами (питательный бульон на основе гидролизата минтая, pH 7,2–7,3), и среда, лимитированная по основным биоэлементам питания (0,1 М фосфатно-солевой буфер, ФСБ), при трех температурных режимах: 6–8°C, 18–20°C и 37°C, т.е. были созданы условия, приближенные к теплокровному организму или к окружающей среде.

Для изучения влияния абиотических факторов при обитании бактерий в почве были использованы почвенный резервуар, находившийся на открытом воздухе при естественных погодных условиях (весна-осень) (заражающая доза составила 10⁶ КОЕ/г почвы), и проточные почвенные колонки, заполненные почвогрунтом, в которых выдерживали инокулированные бактерии (заражающая доза 10⁹ микробных клеток/мл) при постоянной температуре 6–8°C или 18–20°C. Для выделения бактерий из почвенных образцов применяли дифференциально-диагностические среды.

Исследования в модельных микроэкосистемах (периодические и почвенные культуры *Yersinia pseudotuberculosis* и *Listeria monocytogenes*) позволили получить представление об адаптивной изменчивости популяций возбудителей сапрозоонозов в свойственных для них изменяющихся условиях обитания [16, 28]. Как в условиях паразитической фазы существования (периодическое культивирование), так и в условиях сапрофитической фазы (почвенные культуры) установлены сходные морфологические изменения адаптивного характера: образование цитоплазматических выростов (простеков), накопление запасных веществ, повышение извилистости и изменение толщины клеточной стенки, изменение рибосомальной насыщенности цитоплазмы и состояния нуклеоида, связанного с конформационным изменением бактериальной ДНК. Все эти изменения направлены на сохранение популяций возбудителей сапрозоонозов в различных условиях обитания.

Важным этапом развития эколого-эпидемиологического направления в микробиологии стали исследования, касающиеся изучения бактериальных популяций в стрессовых условиях окружающей среды, при которых бактерии способны переходить в состояние покоя с резким снижением их метаболической активности и временной потерей способности к размножению [1, 30–32]. Установлено, что бактерии имеют оригинальные способы выжить во время стресса [33–35], например вызванного неизбежным истощением питательных веществ, а также воздействием антибиотиков. Описаны два разных фенотипа: клетки входят в ненаследуемое, обратимое, неактивное состояние — VBNC-клетки и пер-

систирующие клетки [7, 14, 15, 36]. Персистирующие клетки (клетки-персистеры) были обнаружены еще в 1942 г. G.L. Hobby и соавт. [37], установившими, что 1% клеток в популяции *Staphylococcus aureus* не убивались высокими дозами пенициллина и характеризовались метаболическим и репликативным покоем.

Спустя 40 лет VBNC-клетки впервые были описаны у *Escherichia coli* и *Vibrio cholerae*. Они появляются после длительного периода (2 нед) в микрокосмах соленой воды, но не культивируются на селективных и общепринятых средах, на которых они обычно способны к росту. Однако несколько стимулов, таких как питательные вещества и температурные сдвиги, приводят к рекультивированию VBNC-форм [8, 13, 38, 39].

У двух покоящихся состояний бактерий выявлено много общего. Как клетки-персистеры, так и VBNC-формы связаны с хроническими инфекциями, оба состояния бактерий присутствуют в биопленках [15, 40–42], а также формируются в условиях более чем одного вида стресса — например, окислительного или кислотного [15, 43]. Генетическая основа для обоих типов клеток недостаточно хорошо охарактеризована. Описывается роль токсин-антитоксиновых систем (TAS) в индукции VBNC-состояния [7, 18–20]. Сообщается, что эти системы, которые классически участвуют в формировании клеточной оболочки, также индуцируют образование клеток-персистеров во время инкубации в человеческой сыворотке [7, 15, 44], что имеет клиническое значение [45].

Наиболее важную роль в формировании персистирующих клеток играют гуанозинтетрафосфат (ppGpp) [39] и сигма-фактор стационарной фазы RpoS [9]. RpoS [8, 43], транскрипционный регулятор OxyR, который контролирует гены, связанные с окислительным стрессом [15], и TAS [7, 18–20] ассоциированы с VBNC-клетками. Следовательно, было высказано предположение, что эти два состояния выживания бактерий могут быть частью «континуума покоя» [7, 15, 20].

Ключевая особенность, которая отличает клетки-персистеры от VBNC-форм, заключается в том, что последние нельзя реанимировать (рекультивировать) при нормальных условиях, тогда как персистеры могут быть легко преобразованы в вегетативное состояние, чувствительное к антибиотикам или другим стрессам [12]. VBNC-формы и клетки-персистеры обладают многими сходными чертами и могут сосуществовать [20, 32, 38], однако сравнений этих двух этапов покоящихся клеток по физиологии и морфологии не проводилось.

Итак, в настоящее время доказано, что бактерии имеют два устойчивых фенотипа: VBNC и состояние персистенции. Обе покоящиеся формы возникают без мутации и связаны с хронически-

ми инфекциями, однако субпопуляция клеток-персистеров способна к быстрой рекультивации при наступлении благоприятных условий роста, тогда как VBNC-клетки могут находиться в этой форме годами. VBNC-формы присутствовали в экспериментальных образцах при изоляции персистеров, что еще раз подтверждает факт, что эти клеточные формы сосуществуют, индуцируются теми же условиями и регулируются TAS [12].

В недавнем исследовании [14] была прослежена взаимосвязь этих двух стресс-индуцированных фенотипов бактерий с помощью трансмиссионной электронной микроскопии и флуоресцентной микроскопии с исследованием морфологии клеток и количественным определением реанимированных (оживших) клеток. Авторами установлено, что жизнеспособная доля VBNC-клеток, образующихся в результате истощения питательных веществ, представлена персистирующими клетками, на основании сравнения их толерантности к антибиотикам, скорости реанимации, морфологии и метаболической активности. Остальная часть клеточной фракции VBNC оказалась нежизнеспособной. Авторы сделали вывод, что фенотип покоящейся клетки, известный как VBNC, является тем же самым, известным как персистентные клетки.

Как уже указывалось, состояние устойчивости у энтеропатогенных бактерий выражается во временной потере репликативной и метаболической активности микроорганизмов [12, 14, 15, 20]. Феномен существования покоящихся состояний бактериальных клеток имеет большое значение в хронизации инфекционного процесса у людей и животных, поскольку установлено, что устойчивые формы способны реанимироваться *in vivo* и восстанавливать свою вирулентность [13, 31, 36].

В России интенсивные исследования некультивируемых форм возбудителей сапронозов проводились в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН в 1980–1990-х гг. Было обнаружено присутствие VBNC-форм *Yersinia pseudotuberculosis* и *Listeria monocytogenes* у экспериментальных животных и в почвенных популяциях бактерий [1–3, 26] и сделан вывод о значении этих форм для резервации и адаптации возбудителей к неблагоприятным условиям среды.

Бактерии постоянно сталкиваются с проблемами потенциально опасной экологической неопределенности. Чтобы избежать такой нестабильности существования, многие микроорганизмы поддерживают субпопуляции с возможностью перехода во временное состояние покоя, в течение которого клетки проявляют снижение темпов роста и метаболической активности [33]. Когда среда становится благоприятной, покоящиеся клетки могут реанимироваться и впоследствии восстанавливать рост [7, 21, 15]. Эволюционная роль поддержания такой

гетерогенности популяции бактерий обусловлена тем, что возникновение клеток разных фенотипов увеличивает вероятность выживания патогенов в нестабильной среде [33].

Важно отметить, что состояние покоя, которое позволяет бактериям противостоять экологическому стрессу, также может сделать их толерантными к антибиотикам [44, 23, 36], что подчеркивает клиническую значимость этого физиологического состояния. Обнаружено, что по меньшей мере 85 видов бактерий попадают в VBNC-состояние [15]. Это состояние альтернативно упоминалось другими авторами как условно жизнеспособные экологические клетки (CVEC) [9], активные, но некультивируемые клетки (ABNC) [22] и спящие клетки [45]. Оказалось, что эти клетки являются жизнеспособными вследствие их интактной клеточной мембраны, низкоуровневой метаболической активности и продолжения экспрессии генов [31, 36]. VBNC-состояние считается эффективной стратегией выживания для бактерий, т.к. позволяет клеткам выдерживать неблагоприятные условия окружающей среды и реанимировать репликативную форму при улучшении условий окружающей среды.

Таким образом, бактериальные клетки, находящиеся в состоянии VBNC, по-видимому, оказываются такими же, как и персистентные клетки, по устойчивости к антибиотикам, морфологии, скорости реанимации и метаболической активности. К настоящему времени сделано предположение [14], что термины «VBNC» и «персистеры» описывают один и тот же фенотип для покоящихся (спящих) клеток и что термин «VBNC-клетки» следует заменить на «персистентные клетки», поскольку VBNC-клетки не представляют собой отдельный фенотип.

Обращает на себя внимание, что большинство исследований по данной проблеме посвящено изучению вопросов детекции некультивируемых форм и индукции VBNC-состояния возбудителей бактериальных инфекций, тогда как ультраструктурная организация и морфологическая вариабельность VBNC- и персистентных клеток до сих пор освещены недостаточно.

Принимая во внимание сообщения зарубежных ученых в 2000-х гг. о феномене VBNC-состояния потенциально патогенных бактерий, нами были проанализированы результаты собственных, ранее проведенных исследований ультраструктуры возбудителей сапрозоонозов в разных экологических условиях [28]. Наше внимание было обращено на морфологию *Yersinia pseudotuberculosis* при длительном обитании в почве и при периодическом культивировании в стационарную фазу/фазу отмирания, когда бактерии могут переходить в некультивируемое состояние.

При периодическом культивировании численность бактериальной популяции и период наступления

пления фазы отмирания зависели от трофических и температурных факторов. При росте на питательном бульоне наибольшая численность популяции в стационарной фазе наблюдалась при культивировании в режиме 18–20°C (до 9,0 lg КОЕ/0,1 мл), фаза отмирания бактерий начиналась через 3 сут культивирования с уменьшением численности бактерий к концу срока наблюдения (40 сут). При температуре культивирования 18–20°C на бедной среде (ФСБ) через 10 сут максимальная численность бактерий достигла 6,0 lg КОЕ/0,1 мл и началась фаза отмирания с падением численности бактерий до 1,5 lg КОЕ/0,1 мл к 40-м суткам наблюдения. При температуре 37°C численность бактерий снижалась до нулевого уровня при культивировании в питательном бульоне к 15-м суткам, а в ФСБ — к 5-м суткам наблюдения. Поскольку *Yersinia pseudotuberculosis* обладают психрофильными свойствами, температура культивирования 6–8°C была для них наиболее благоприятной. При ней активное размножение бактерий (экспоненциальная фаза) продолжалось до 5 сут при росте в питательном бульоне и до 10 сут — в ФСБ. В обеих средах в течение всего срока наблюдения (40 сут) фаза отмирания бактерий не наступила [28].

С учетом динамики размножения *Yersinia pseudotuberculosis* в разных условиях питания было обращено внимание на наличие признаков некультивируемых форм бактерий, выращенных при температуре 37°C и 18–20°C, в фазе отмирания периодической культуры. К 10-м суткам культивирования выявлялись бактерии на разных стадиях лизиса, однако при этом обращала на себя внимание сохраняемая клеточная стенка у так называемых лизированных бактерий. В культуре, выросшей при 18–20°C,

на 40-е сутки наблюдения еще обнаруживались бактериальные клетки, сохранившие основные ультраструктуры. Нуклеоид в таких бактериях зачастую имел вид грубых фибрилл и конгломератов. При росте в питательном бульоне и в бедной питательной среде (ФСБ) при 18–20°C в стационарной фазе/фазе отмирания периодическая культура состояла в основном из деградированных форм бактерий. Наблюдался клеточный гетероморфизм с наличием клеток с частичным лизисом и темными участками цитозоля и полностью лизированных клеток с пустой областью в цитозоле (рис. 1, 2). В то же время имелись сохранившиеся бактериальные клетки с электронно-плотными фибриллами хроматина в зоне нуклеоида. В последних нередко отмечались изменения сферопластного типа.

Таким образом, при периодическом культивировании *Yersinia pseudotuberculosis* в фазе отмирания в бактериальной популяции определялись клетки, имевшие сходство с некультивируемыми формами, аналогично описанным J.S. Kim и соавт. (2017) [14]. Пустой цитозоль в части клеток расценивается как признак их гибели [14, 30], поэтому можно считать, что популяция *Yersinia pseudotuberculosis* в фазе отмирания содержит VBNC-клетки, часть из которых нежизнеспособные.

Изучение морфофункционального состояния возбудителя *Yersinia pseudotuberculosis* при обитании в почве при разных температурах проведено в долгосрочных экспериментах на модельных микросистемах — почвенном резервуаре и проточных почвенных колонках [28]. Исследование культур *Yersinia pseudotuberculosis*, выделенных из почвы на разных сроках наблюдения, показало, что

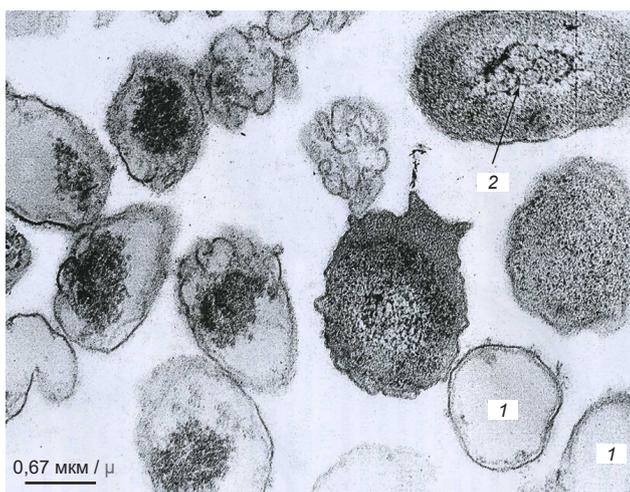


Рис. 1. *Yersinia pseudotuberculosis*, периодическая культура в питательном бульоне при температуре 18–20°C, 40 сут, стационарная фаза — фаза отмирания. Трансмиссионная электронная микроскопия (фото Л.М. Сомовой).

1 — лизированная бактерия; 2 — фибриллы хроматина в области нуклеоида.

Fig. 1. *Yersinia pseudotuberculosis*, a periodic culture in nutrient broth at a temperature of 18–20°C, 40 days, the stationary phase — the die-phase. Transmission electron microscopy (photo by L.M. Somova).

1 — lysed bacteria; 2 — chromatin fibrils in the nucleoid zone.

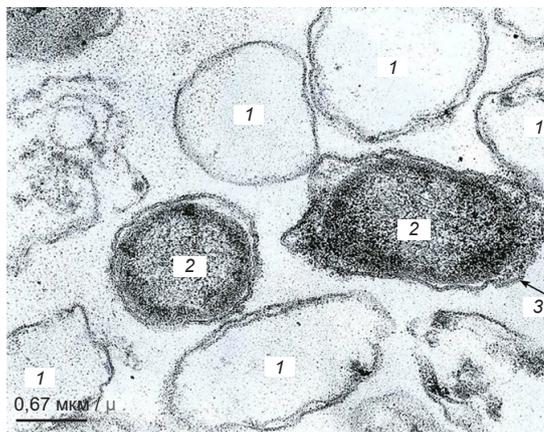


Рис. 2. *Yersinia pseudotuberculosis*, периодическая культура в ФСБ при температуре 18–20°C, 15 сут, стационарная фаза — фаза отмирания. Трансмиссионная электронная микроскопия (фото Л.М. Сомовой).

1 — лизированная бактерия с пустым цитозолем; 2 — бактерии с плотным цитозолем и отслоением клеточной стенки; 3 — клеточная стенка.

Fig. 2. *Yersinia pseudotuberculosis*, a periodic culture in phosphate-buffered saline at a temperature of 18–20°C, 15 days, the stationary phase — die-phase. Transmission electron microscopy (photo by L.M. Somova).

1 — lysed bacteria with empty cytosol; 2 — bacteria with dense cytosol; 3 — cell wall.

начиная с 7-го месяца обитания в почве (сентябрь) в популяции микроба стали проявляться признаки S↔R-диссоциации. В период наблюдения (9 мес) размеры бактериальных клеток, по сравнению с контролем, варьировали.

Через 3 мес почвенная популяция *Yersinia pseudotuberculosis* состояла в основном из бактерий овоидной формы, однако изредка наблюдались единичные гигантские клетки, делящиеся на несколько неравномерных сегментов. В бактериальных клетках выявлялась разреженная зона нуклеоида. Часть подобных бактерий находилась в состоянии бинарного деления. На внешней мембране клеточной стенки сохранялся мелкогранулярный зернистый компонент.

Бактериальные клетки 7-месячной почвенной культуры отличались значительным гетероморфизмом. Обращало на себя внимание большое количество деформированных бактерий, однако они, как правило, не имели изменений по сферопластному типу, сохраняя основные ультраструктуры. У подобных клеток отмечалось истончение клеточной стенки, в части из них нуклеоид не выявлялся. Поверхность бактериальных клеток часто имела фестончатый вид за счет образования простеков, увеличивающих поверхность клеточной стенки и, соответственно, потребление питательных веществ. Обращало на себя внимание появление фибриллярных электронно-плотных структур хроматина, имеющих форму завитка и расположенных параллельно друг другу. У части бактериальных клеток имелось до 2–3 таких образований, отражающих конформационные изменения ДНК [14, 27, 28]. Подобные зоны конденсации хроматина обнаруживались и у делящихся бактерий в области формиро-

вания поперечной перетяжки. Наблюдался также гетероморфизм клеток по рибосомальной насыщенности цитозоля, что указывало на различия метаболической активности в клетках бактериальной популяции. Рибосомы и полирибосомы практически не выявлялись, в большей или меньшей степени клетка была заполнена конгломератами рибонуклеопротеида [28].

В препаратах 9-месячной почвенной культуры *Yersinia pseudotuberculosis* бактериальные клетки имели значительное разрежение и дефекты зоны нуклеоида. Наблюдалась колонизация клеток посредством межклеточного аморфного матрикса, плотно связывающего их друг с другом. Между частью бактерий просматривались межклеточные мостики. Бактерии-ревертанты данной культуры по размерам и ультраструктуре были сходны с бактериями одномесячной почвенной культуры, но в области нуклеоида у них сохранялись грубые фибриллы хроматина.

Таким образом, при обитании в условиях почвенного резервуара, подвергавшегося влиянию погодных условий, у бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* происходили изменения морфофункционального состояния. По всей видимости, эти изменения носили адаптивный характер и свидетельствовали о высокой способности возбудителя псевдотуберкулеза к приспособлению к неблагоприятным условиям окружающей среды.

В наших экспериментах общей особенностью для штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* являлось независимое от температуры нарастание количества бактерий, обладающих утолщенной клеточной стенкой, с увеличением срока наблюдения. Толщина клеточной стенки у двух исследованных штаммов бактерий увеличилась в среднем до 830

Å по сравнению с контролем (75 Å). К 2 годам наблюдения этот признак был характерен для всех бактерий изученных почвенных вариантов *Yersinia pseudotuberculosis*. Бактерии культуры *Yersinia pseudotuberculosis* (штамм Н-2781), находившейся в почвенных колонках в течение 3 мес при температуре 6–8°C, были представлены в основном округлыми (кокковидными) и, в меньшем количестве, овоидными формами. На всех сроках наблюдения для бактерий «холодовых» культур было характерно наличие грубых фибрилл и конгломератов хроматина. Как отмечено выше, конденсация хроматина в бактериальной клетке свидетельствует о том, что ДНК находится в составе нуклеопротеида и наилучшим способом защищена от внешних воздействий [1, 2]. Поэтому можно предполагать, что электронно-плотные структуры нуклеопротеидов являются морфологическим признаком возбудителей сапронозов в сапрофитической фазе существования.

На основании вышесказанного можно заключить, что при обитании в почвенных экосистемах открытого типа у исследуемых бактерий происходят ультраструктурные изменения (образование капсулы и микрокапсулы, общего покрова, слизи, межклеточных контактов, простеков, запасных веществ, повышение извилистости и изменение толщины клеточной стенки, изменение размеров клеток, рибосомальной насыщенности цитоплазмы и состояния ДНК), способствующие выживанию бактериальных клеток в условиях постоянного воздействия биотических и абиотических факторов окружающей среды. Подобные изменения характерны для R- и переходных форм бактерий [11, 14, 20, 26, 28].

Таким образом, можно предполагать, что появление комплекса изменений в ультраструктуре бактерий *Yersinia pseudotuberculosis* следует рассматривать как естественную адаптивную реакцию на меняющиеся условия обитания в соответствующей экологической нише. Появление у исследуемых бактерий периодических и почвенных культур сходных изменений ультраструктур, выполняющих одну и ту же функцию, указывает на универсальность механизмов адаптации.

В плане понимания механизмов обезвреживания микроорганизмов при развитии антиинфекционной резистентности организма животных и человека следует акцентировать внимание на L-трансформации бактерий как одном из важных факторов, создающих возможность персистенции возбудителей и рецидивирования инфекционных болезней [1, 2, 16, 17]. В этих исследованиях L-трансформация бактерий была охарактеризована как закономерная своеобразная форма адаптации их к изменившимся условиям среды обитания. На данный момент не определена однозначность этого феномена и других проявлений гетероморфизма бактерий. Известно, что L-трансформация свойственна многим бакте-

риям и *in vivo* может происходить под влиянием различных эндогенных факторов, в первую очередь лизоцима, лизосомальных ферментов и аминокислот. Повреждающее действие на бактерии оказывают энзимы фагоцитов, влияющие на фосфолипиды и пептидогликаны бактериальных стенок [17].

У животных, зараженных вирулентным штаммом *Yersinia pseudotuberculosis*, на 7–14-е сутки инфекции в органах, наряду с типичными и деструктивно измененными бактериальными клетками, обнаружены формы протопластного и сфероластного типов [16] с наличием миелиноподобных структур вокруг бактерий, подобно таковым в культуре клеток, зараженных *Yersinia pseudotuberculosis* [27]. Образование таких структур связывают чаще всего с перекисным окислением липидов клеточных мембран, происходящим под воздействием различных повреждающих факторов. Подобные изменения ультраструктуры *Yersinia pseudotuberculosis* отмечены также при взаимодействии их с инфузориями [26], при этом высказано предположение о том, что окруженные миелиноподобными мембранами бактерии могут достаточно длительно сохранять жизнеспособность. По нашему мнению, формирование миелиноподобных структур характеризует картину незавершенного фагоцитоза, свойственного для возбудителя псевдотуберкулеза и некоторых других инфекций, вызываемых факультативными внутриклеточными бактериями, что также согласуется с данными В.И. Пушкаревой с соавт. (1990) [26] в отношении бактерий рода *Yersinia*. Возможно, что выявленные в экспериментальных исследованиях ультраструктурные изменения *Yersinia pseudotuberculosis* находятся в тесной связи с изменением вирулентности бактерий в процессе инфекции.

Дальнейшие исследования морфофункциональной изменчивости патогенных бактерий помогут приблизиться к решению са크раментального вопроса Г.П. Сомова: где, как и когда происходит восстановление вирулентности возбудителей сапрозоонозов во внешней среде, инициирующее возникновение эпидемического (эпизоотического) и инфекционного процессов [4]?

Раскрытие новых механизмов индукции некультивируемого состояния у возбудителей сапронозов в паразитической и сапрофитической фазах их существования, а также выявление ранее неизвестных условий реверсии некультивируемых форм в вегетативные формы, детерминирующие развитие инфекционного процесса, имеет фундаментальное и прикладное значение. Углубленное исследование проявлений гетероморфизма бактерий в стрессовых условиях должно быть направлено на усовершенствование методов детекции некультивируемых форм возбудителей сапронозов в биоматериале от человека и животных с целью диагностики хронически рецидивирующих и персистентных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бухарин О.В., Гинцбург А.П., Романова Ю.М., Эль-Регистан Т.И. *Механизмы выживания бактерий*. М.: Медицина; 2005.
2. Прозоровский С.В., ред. *Эпидемиологические аспекты экологии бактерий*. М.: Фармаус-Принт; 1998.
3. Литвин В.Ю., Сомов Г.П., Пушкарева В.И. Сапронозы как природно-очаговые болезни. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2010; (1): 10-6.
4. Сомов Г.П. Современное представление о сапронозах (основные итоги изучения проблемы). *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2001; (2): 67-70.
5. Бухарин О.В. Инфекционная симбиология. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2015; 92(4): 4-9.
6. Сомов Г.П., Бузолева Л.С. *Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды*. Владивосток; 2004.
7. Ayrapetyan M., Williams T.C., Oliver J.D. Interspecific quorum sensing mediates the resuscitation of viable but non-culturable vibrios. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014; 80(8): 2478-83. DOI: <http://doi.org/10.1128/AEM.00080-14>
8. Boaretti M., Lleo M.M., Bonato B., Signoretto C., Canepari P. Involvement of rpoS in the survival of Escherichia coli in the viable but non-culturable state. *Environ. Microbiol.* 2003; 5(10): 986-96. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00497.x>
9. Hong S.H., Wang X.X., O'Connor H.F., Benedik M.J., Wood T.K. Bacterial persistence increases as environmental fitness decreases. *Microb. Biotechnol.* 2012; 5(4): 509-22. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00327.x>
10. Бузолева Л.С. *Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды*: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Владивосток; 2001.
11. Милько Е.С., Егоров Н.С. *Гетерогенность популяции бактерий и процесс диссоциации*. М.: МГУ; 1991.
12. Ayrapetyan M., Williams T.C., Baxter R., Oliver J.D. Viable but non-culturable and persister cells coexist stochastically and are induced by human serum. *Infect. Immun.* 2015; 83(11): 4194-203. DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.00404-15>
13. Baffone W., Citterio B., Vittoria E., Casaroli A., Campana R., Falzano L., et al. Retention of virulence in viable but non-culturable halophilic Vibrio spp. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 89(1): 31-9. DOI: [http://doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00102-8](http://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00102-8)
14. Kim J.S., Chowdhury N., Wood T.K. Viable but non-culturable and persistence describe the same bacterial stress state. *Environ. Microbiol.* 2018; 20(6): 2038-48. DOI: <http://doi.org/10.1111/1462-2920.14075>
15. Li L., Mendis N., Trigui H., Oliver J.D., Faucher S.P. The importance of the viable but nonculturable state in human bacterial pathogens. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 258. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00258>
16. Исачкова Л.М., Жаворонков А.А., Шубин Ф.Н. L-трансформация иерсиний при экспериментальном псевдотуберкулезе. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1993; 70(1): 11-5.
17. Joseleau-Petit D., Liébart J.C., Ayala J.A., D'Ari R. Unstable Escherichia coli L-Forms revisited: growth requires peptidoglycan synthesis. *J. Bacteriol.* 2007; 189(18): 6512-20. DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.00273-07>
18. Hayes F. Toxins-antitoxins: Plasmid maintenance, programmed cell death, and cell cycle arrest. *Science*. 2003; 301(5639): 1496-9. DOI: <http://doi.org/10.1126/science.1088157>
19. Page R., Peti W. Toxin-antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nat. Chem. Biol.* 2016; 12(4): 208-14. DOI: <http://doi.org/10.1038/nchembio.2044>
20. Wood T.K. Combatting bacterial persister cells. *Biotechnol. Bioeng.* 2016; 113(3): 476-83. DOI: <http://doi.org/10.1002/bit.25721>
21. Ayrapetyan M., Williams T.C., Oliver J.D. Bridging the gap between viable but non-culturable and antibiotic persistent bacteria. *Trends Microbiol.* 2015; 23(1): 7-13. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2014.09.004>
22. Nelson E.J., Chowdhury A., Flynn J., Schild S., Bourassa L., Shao Y., et al. Transmission of Vibrio cholerae is antagonized by lytic phage and entry into the aquatic environment. *PLoS Pathog.* 2008; 4(10): e1000187. DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000187>
23. Nowakowska J., Oliver J.D. Resistance to environmental stresses by Vibrio vulnificus in the viable but nonculturable state. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2013; 84(1): 213-22. DOI: <http://doi.org/10.1111/1574-6941.12052>
24. Белов А.Б., Куликалова Е.С. Сапронозы: экология возбудителей, эпидемиология и систематика. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2016; 15(1): 5-16.
25. Брусина Е.Б. Эпидемиология инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, вызванных возбудителями группы сапронозов. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2015, 14(2): 50-6.
26. Пушкарева В.И., Литвин В.Ю., Константинова Н.Д. Анализ механизмов взаимодействия иерсиний с инфузориями Tetrahymena pyriformis на клеточном и субклеточном уровнях. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1990; 67(1): 3-8.
27. Кириллова Ф.М., Тимченко Н.Ф. Электронно-микроскопическое изучение взаимодействия Yersinia pseudotuberculosis с макрофагами и клетками HeLa. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1984; 61(7): 95-7.
28. Сомова Л.М., Бузолева Л.С., Плехова Н.Г. *Ультраструктура патогенных бактерий в разных экологических условиях*. Владивосток: Медицина ДВ; 2009.
29. Белов А.Б., Кузин А.А. Сапронозные инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи: проблемные вопросы теории эпидемиологии. *Пермский медицинский журнал*. 2017; 34(4): 94-102.
30. Amara A.A., Salem-Bekhit M.M., Alanazi F.K. Sponge-like: a new protocol for preparing bacterial ghosts. *ScientificWorld Journal*. 2013; 2013: 545741. DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/545741>
31. Oliver J.D. The viable but nonculturable state in bacteria. *J. Microbiol.* 2005; 43(Special): 93-100.
32. Orman M.A., Brynildsen M.P. Establishment of a method to rapidly assay bacterial persister metabolism. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(9): 4398-409. DOI: <http://doi.org/10.1128/AAC.00372-13>
33. Lennon J.T., Jones S.E. Microbial seed banks: the ecological and evolutionary implications of dormancy. *Nat. Rev. Microbiol.* 2011; 9(2): 119-30. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro2504>
34. Requena J.M. *Stress Response in Microbiology*. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2012.
35. Storz G., Hengge R, eds. *Bacterial Stress Responses*. Washington: American Society for Microbiology Press; 2010.
36. Oliver J.D. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 2010; 34(4): 415-25. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00200.x>
37. Hobby G.L., Meyer K., Chaffee E. Observations on the mechanism of action of penicillin. *Proc. Soc. Exp. Biol. NY.* 1942; 50(2): 281-5. DOI: <http://doi.org/10.3181/00379727-50-13773>
38. Gonçalves F.D., de Carvalho C.C. Phenotypic Modifications in Staphylococcus aureus Cells Exposed to High Concentrations

- of Vancomycin and Teicoplanin. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 13.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00013>
39. Korch S.B., Henderson T.A., Hill T.M. Characterization of the hipA7 allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p)ppGpp synthesis. *Mol. Microbiol.* 2003; 50(4): 1199-213.
DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03779.x>
40. Mulcahy L.R., Burns J.L., Lory S., Lewis K. Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing high levels of persister cells in patients with cystic fibrosis. *J. Bacteriol.* 2010; 192(23): 6191-9.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.01651-09>
41. Rivers B., Steck T.R. Viable but non-culturable uropathogenic bacteria are present in the mouse urinary tract following urinary tract infection and antibiotic therapy. *Urol. Res.* 2001; 29(1): 60-6.
DOI: <http://doi.org/10.1007/s002400000151>
42. Epstein S.S., ed. *Uncultivated Microorganisms*. Berlin: Springer-Verlag; 2009.
43. Kusumoto A., Asakura H., Kawamoto K. General stress sigma factor RpoS influences time required to enter the viable but non-culturable state in *Salmonella enterica*. *Microbiol. Immunol.* 2012; 56(4): 228-37.
DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2012.00428.x>
44. Helaine S., Kugelberg E. Bacterial persisters: formation, eradication, and experimental systems. *Trends Microbiol.* 2014; 22(7): 417-24.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2014.03.008>
45. Potgieter M., Bester J., Kell D.B., Pretorius E. The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiol. Rev.* 2015; 39(4): 567-91.
DOI: <http://doi.org/10.1093/femsre/fuv013>
11. Mil'ko E.S., Egorov N.S. *The Heterogeneity of the Bacterial Population and the Process of Dissociation [Geterogenost' populyatsii bakteriy i protsess dissotsiatsii]*. Moscow: MGU; 1991. (in Russian)
12. Ayrapetyan M., Williams T.C., Baxter R., Oliver J.D. Viable but non-culturable and persister cells coexist stochastically and are induced by human serum. *Infect. Immun.* 2015; 83(11): 4194-203.
DOI: <http://doi.org/10.1128/IAI.00404-15>
13. Baffone W., Citterio B., Vittoria E., Casaroli A., Campana R., Falzano L., et al. Retention of virulence in viable but non-culturable halophilic *Vibrio* spp. *Int. J. Food Microbiol.* 2003; 89(1): 31-9.
DOI: [http://doi.org/10.1016/s0168-1605\(03\)00102-8](http://doi.org/10.1016/s0168-1605(03)00102-8)
14. Kim J.S., Chowdhury N., Wood T.K. Viable but non-culturable and persistence describe the same bacterial stress state. *Environ. Microbiol.* 2018; 20(6): 2038-48.
DOI: <http://doi.org/10.1111/1462-2920.14075>
15. Li L., Mendis N., Trigui H., Oliver J.D., Faucher S.P. The importance of the viable but nonculturable state in human bacterial pathogens. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 258.
DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00258>
16. Isachkova L.M., Zhavoronkov A.A., Shubin F.N. L-transformation of *Yersinia* in experimental pseudotuberculosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1993; 70(1): 11-5. (in Russian)
17. Joseleau-Petit D., Liébart J.C., Ayala J.A., D'Ari R. Unstable *Escherichia coli* L-Forms revisited: growth requires peptidoglycan synthesis. *J. Bacteriol.* 2007; 189(18): 6512-20.
DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.00273-07>
18. Hayes F. Toxins-antitoxins: Plasmid maintenance, programmed cell death, and cell cycle arrest. *Science.* 2003; 301(5639): 1496-9.
DOI: <http://doi.org/10.1126/science.1088157>
19. Page R., Peti W. Toxin-antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nat. Chem. Biol.* 2016; 12(4): 208-14.
DOI: <http://doi.org/10.1038/nchembio.2044>
20. Wood T.K. Combatting bacterial persister cells. *Biotechnol. Bioeng.* 2016; 113(3): 476-83.
DOI: <http://doi.org/10.1002/bit.25721>
21. Ayrapetyan M., Williams T.C., Oliver J.D. Bridging the gap between viable but non-culturable and antibiotic persistent bacteria. *Trends Microbiol.* 2015; 23(1): 7-13.
DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2014.09.004>
22. Nelson E.J., Chowdhury A., Flynn J., Schild S., Bourassa L., Shao Y., et al. Transmission of *Vibrio cholerae* is antagonized by lytic phage and entry into the aquatic environment. *PLoS Pathog.* 2008; 4(10): e1000187.
DOI: <http://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000187>
23. Nowakowska J., Oliver J.D. Resistance to environmental stresses by *Vibrio vulnificus* in the viable but nonculturable state. *FEMS Microbiol. Ecol.* 2013; 84(1): 213-22.
DOI: <http://doi.org/10.1111/1574-6941.12052>
24. Belov A.B., Kulikalova E.S. Saprosones: ecology of infection agents, epidemiology, terminology and classification. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika.* 2016; 15(1): 5-16. (in Russian)
25. Brusina E.B. Epidemiology of infections associated with the provision of medical care caused by pathogens of the sapronosis group. *Epidemiologiya i vaksino profilaktika.* 2015, 14(2): 50-6. (in Russian)
26. Pushkareva V.I., Litvin V.Yu., Konstantinova N.D. Analysis of the mechanisms of interactions of *Yersinia* with *Tetrahymena pyriformis* ciliates at the cellular and subcellular levels. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii.* 1990; 67(1): 3-8. (in Russian)
27. Kirillova F.M., Timchenko N.F. Electron microscopic study of the interaction of *Yersinia pseudotuberculosis* with macro-

- phages and HeLa cells. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1984; 61(7): 95-7. (in Russian)
28. Somova L.M., Buzoleva L.S., Plekhova N.G. *Ultrastructure of Pathogenic Bacteria in Different Environmental Conditions [Ul'trastruktura patogennykh bakteriy v raznykh ekologicheskikh usloviyakh]*. Vladivostok: Meditsina DV; 2009. (in Russian)
 29. Belov A.B., Kuzin A.A. Health care-associated sapronous infections: problematic questions of epidemiological theory. *Permskiy meditsinskiy zhurnal*. 2017; 34(4): 94-102. (in Russian)
 30. Amara A.A., Salem-Bekhit M.M., Alanazi F.K. Sponge-like: a new protocol for preparing bacterial ghosts. *ScientificWorld-Journal*. 2013; 2013: 545741. DOI: <http://doi.org/10.1155/2013/545741>
 31. Oliver J.D. The viable but nonculturable state in bacteria. *J. Microbiol.* 2005; 43(Special): 93-100.
 32. Orman M.A., Brynildsen M.P. Establishment of a method to rapidly assay bacterial persister metabolism. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2013; 57(9): 4398-409. DOI: <http://doi.org/10.1128/AAC.00372-13>
 33. Lennon J.T., Jones S.E. Microbial seed banks: the ecological and evolutionary implications of dormancy. *Nat. Rev. Microbiol.* 2011; 9(2): 119-30. DOI: <http://doi.org/10.1038/nrmicro2504>
 34. Requena J.M. *Stress Response in Microbiology*. Norfolk, UK: Caister Academic Press; 2012.
 35. Storz G., Hengge R, eds. *Bacterial Stress Responses*. Washington: American Society for Microbiology Press; 2010.
 36. Oliver J.D. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 2010; 34(4): 415-25. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2009.00200.x>
 37. Hobby G.L., Meyer K., Chaffee E. Observations on the mechanism of action of penicillin. *Proc. Soc. Exp. Biol. NY.* 1942; 50(2): 281-5. DOI: <http://doi.org/10.3181/00379727-50-13773>
 38. Gonçalves F.D., de Carvalho C.C. Phenotypic Modifications in *Staphylococcus aureus* Cells Exposed to High Concentrations of Vancomycin and Teicoplanin. *Front. Microbiol.* 2016; 7: 13. DOI: <http://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00013>
 39. Korch S.B., Henderson T.A., Hill T.M. Characterization of the hipA7 allele of *Escherichia coli* and evidence that high persistence is governed by (p)ppGpp synthesis. *Mol. Microbiol.* 2003; 50(4): 1199-213. DOI: <http://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03779.x>
 40. Mulcahy L.R., Burns J.L., Lory S., Lewis K. Emergence of *Pseudomonas aeruginosa* strains producing high levels of persister cells in patients with cystic fibrosis. *J. Bacteriol.* 2010; 192(23): 6191-9. DOI: <http://doi.org/10.1128/JB.01651-09>
 41. Rivers B., Steck T.R. Viable but non-culturable uropathogenic bacteria are present in the mouse urinary tract following urinary tract infection and antibiotic therapy. *Urol. Res.* 2001; 29(1): 60-6. DOI: <http://doi.org/10.1007/s002400000151>
 42. Epstein S.S., ed. *Uncultivated Microorganisms*. Berlin: Springer-Verlag; 2009.
 43. Kusumoto A., Asakura H., Kawamoto K. General stress sigma factor RpoS influences time required to enter the viable but non-culturable state in *Salmonella enterica*. *Microbiol. Immunol.* 2012; 56(4): 228-37. DOI: <http://doi.org/10.1111/j.1348-0421.2012.00428.x>
 44. Helaine S., Kugelberg E. Bacterial persisters: formation, eradication, and experimental systems. *Trends Microbiol.* 2014; 22(7): 417-24. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.tim.2014.03.008>
 45. Potgieter M., Bester J., Kell D.B., Pretorius E. The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiol. Rev.* 2015; 39(4): 567-91. DOI: <http://doi.org/10.1093/femsre/fuv013>

Информация об авторах:

Сомова Лариса Михайловна — д.м.н., проф., г.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» РАН, 690087, Владивосток, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2023-1503>. E-mail: l_somova@mail.ru

Андрюков Борис Георгиевич — д.м.н., в.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» РАН, 690087, Владивосток, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4456-808X>. E-mail: andrukov_bg@mail.ru

Ляпун Ирина Николаевна — к.б.н., с.н.с. лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» РАН, 690087, Владивосток, Россия. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>. E-mail: irina-lyapun@list.ru

Участие авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Information about the authors:

Larisa M. Somova — Doct. Sci. (Med.), principal researcher, Laboratory of molecular microbiology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2023-1503>. E-mail: l_somova@mail.ru

Boris G. Andryukov — Doct. Sci. (Med.), leading researcher, Laboratory of molecular microbiology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-4456-808X>. E-mail: andrukov_bg@mail.ru

Irina N. Lyapun — Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, Laboratory of molecular microbiology, Somov Institute of Epidemiology and Microbiology, 690087, Vladivostok, Russia. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-5290-3864>. E-mail: irina-lyapun@list.ru

Contribution: the authors contributed equally to this article.