

© Яковлев А.А., Еськова А.И., Пономарева А.Л., Корнюшина А.А., 2021

УДК 616-036.22:616.98

Новый подход к изучению проблемы сапронозов (на модели *Listeria monocytogenes*)

А.А. Яковлев¹, А.И. Еськова¹, А.Л. Пономарева¹, А.А. Корнюшина²

¹ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, ул. Сельская, д. 1, г. Владивосток, 690087, Российская Федерация

²ФГАОУ ВО «Дальневосточный федеральный университет»,
о. Русский, п. Аякс, д. 10, г. Владивосток, 690922, Российская Федерация

Резюме: *Введение.* После долгого периода непризнания сапронозы и сапрозоонозы заняли полноправное место в классификации инфекционных болезней. Между тем эволюционно сложившиеся особенности этих инфекций остаются не до конца изученными. Выявляются новые факты, связанные со спецификой их циркуляции как во внешней среде, так и в организме теплокровных, изучаются возможности существования в организме гидробионтов и растений, формирование некультивируемых форм и т. д. Однако в последнее время исследователи все большее внимание обращают на возможности микроорганизмов существовать в определенных консорциумах, взаимодействуя с микроорганизмами других видов. В этом плане исследования по проблеме сапронозов пока остаются немногочисленными. *Цель работы:* в модельных экспериментах оценить способность сапротрофных бактерий, выделенных из почвы и морской среды, формировать поликультуральные биопленки с *Listeria monocytogenes*, относимой к сапронозам, и определить характер их взаимодействия. *Материалы и методы.* Исследования проводили в 2017–2019 гг., используя музейные штаммы разных вариантов *Listeria monocytogenes* из коллекции НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова и сапрофитические бактерии, выделенные из морской среды и почвы. Биопленки изучали спектрофотометрическим методом, численность жизнеспособных клеток определяли числом колониеобразующих единиц в 1 мл (КОЕ/мл). *Результаты исследования* показали, что бактерии смешанного микробного сообщества, живущего в биопленке, могут взаимодействовать друг с другом путем конкуренции либо сотрудничества. *Вывод.* Сотрудничество между разными штаммами микроорганизмов, находящихся в почве или морской среде, может способствовать лучшей адаптации и выживаемости *L. monocytogenes*, представляющих потенциальную опасность для населения. Данный факт отражает эпидемиологическую значимость морской и почвенной среды.

Ключевые слова: сапронозы, почвенные и водные микроорганизмы, биопленки, взаимодействие.

Для цитирования: Яковлев А.А., Еськова А.И., Пономарева А.Л., Корнюшина А.А. Новый подход к изучению проблемы сапронозов на модели *Listeria monocytogenes* // Здоровье населения и среда обитания. 2021. № 5 (338). С. 46–51. doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-338-5-46-51>

Информация об авторах:

✉ Яковлев Анатолий Александрович – д-р мед. наук, профессор, вед. науч. сотр. лаборатории молекулярной эпидемиологии и экологии патогенных бактерий ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора; e-mail: yakovlev-epid@yandex.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7008-3804>.

Еськова Алена Игоревна – мл. науч. сотр. лаборатории молекулярной эпидемиологии и экологии патогенных бактерий ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора; e-mail: alena-esya@mail.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3391-0057>.

Пономарева Анна Леонидовна – канд. мед. наук, науч. сотр. лаборатории молекулярной эпидемиологии и экологии патогенных бактерий ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора; e-mail: giston@list.ru; ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4382-9156>.

Корнюшина Анна Александровна – магистрант кафедры биоразнообразия и морских ресурсов Дальневосточного федерального университета; e-mail: xv.ii.xciv@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0821-0742>.

A Novel Approach to Studying the Problem of Sapronoses (on the *Listeria monocytogenes* Model)

A.A. Yakovlev,¹ A.I. Eskova,¹ A.L. Ponomareva,¹ A.A. Korniyushina²

¹Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology,
1 Selskaya Street, Vladivostok, 690087, Russian Federation

²Far Eastern Federal University, 10 Ajax Bay, Russky Island, Vladivostok, 690922, Russian Federation

Summary. *Introduction:* After a long period of non-recognition, sapronoses and saprozooses have taken their rightful place in the classification of infectious diseases, while the evolutionary features of these infections remain unclear. New facts related to the specifics of their circulation both in the external environment and in warm-blooded animals are revealed and the possibilities of their existence in hydrobionts and plants, as well as formation of uncultivated forms, etc., are being studied. However, recent studies have demonstrated the possibility of microorganisms to co-exist in certain consortia, interacting with other types of microorganisms of other species. In this regard, research on the issue of sapronosis remains sparse. Our objective was to evaluate the ability of saprotrophic bacteria isolated from soil and marine environment to form multicultural biofilms with *Listeria monocytogenes*, related to sapronoses, and to determine the nature of their interaction in model experiments. *Materials and methods:* The research was carried out in 2017–2019 using museum strains of different variants of *Listeria monocytogenes* from the collection of the the Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.P. Somov and saprophytic bacteria isolated from marine environment and soil. Biofilms were analyzed by spectrophotometry, and the number of viable cells was determined by the number of colony-forming units in 1 ml (CFU/ml). The results showed that the bacteria of a mixed microbial community living in a biofilm could interact with each other through competition or cooperation. *Conclusion:* Cooperation between different strains of microorganisms in the soil or marine environment may contribute to a better adaptation and survival of *L. monocytogenes*, thus posing a potential hazard to the population. This fact highlights the epidemiological significance of the marine and soil environments.

Keywords: sapronoses, soil and aquatic microorganisms, biofilms, interaction.

For citation: Yakovlev AA, Eskova AI, Ponomareva AL, Korniyushina AA. A novel approach to studying the problem of sapronoses (on the *Listeria monocytogenes* model). *Zdorov'e Naseleniya i Sreda Obitaniya*. 2021; (5(338)):46–51. (In Russian). doi: <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-338-5-46-51>

Author information:

✉ Anatoly A. Yakovlev, D.M.Sc., Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Ecology of Pathogenic Bacteria, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Russian Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing (Rospotrebnadzor); e-mail: yakovlev-epid@yandex.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7008-3804>.

Alena I. Eskova, Junior Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Ecology of Pathogenic Bacteria, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor; e-mail: alena-esya@mail.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3391-0057>.

Anna L. Ponomareva, Candidate of Medical Sciences, Researcher, Laboratory of Molecular Epidemiology and Ecology of Pathogenic Bacteria, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology of Rospotrebnadzor; e-mail: giston@list.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4382-9156>.

Anna A. Korniyushina, Master's student, Department of Biodiversity and Marine Resources, Far Eastern Federal University; e-mail: xv.ii.xciv@bk.ru; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0821-0742>.

Введение. Прошло уже более 60 лет с тех пор, как В.И. Терских опубликовал статью, в которой предложил выделить в систематике инфекционных болезней класс «сапронозы». На первом этапе исследований по данной проблеме шло активное первичное накопление знаний, завершившееся обобщением фактического материала в фундаментальных трудах Г.П. Сомова [1] и В.Ю. Литвина [2]. Научные изыскания, проводимые под руководством этих ученых, заложили экспериментальную основу учения о сапронозах и сапрозоонозах и наметили пути дальнейшего изучения проблемы: исследование циркуляции возбудителей не только во внешней среде и у теплокровных, но и в популяциях растений и беспозвоночных животных, изучение механизмов перехода возбудителей сапронозов в некультивируемое состояние и т. д. [2], разработку инновационных подходов к решению теоретических вопросов [3]. Вместе с тем проводимые исследования недостаточно учитывают тот факт, что и в природных экосистемах, и в организмах теплокровных микроорганизмы существуют не сами по себе, а формируют определенные сообщества. Как известно, все формы органического мира до *Homo sapiens* включительно возникли, эволюционировали и существуют в сложных ассоциациях. В широком диапазоне разнообразных сред (почвы, озера, коралловые рифы, горячие и кислотные экстремальные среды, подземные водоносные горизонты и живые организмы от растений до животных и человека) целые популяции микроорганизмов развили общесистемную гомеостатическую адаптацию к внешним факторам [4]. В сущности, вся биосфера Земли — это единая ассоциация миллионов различных форм жизни. На этой основе развивается наука биогеоценология — раздел экологии, посвященный главным образом взаимоотношениям между компонентами биогеоценозов. Взаимоотношение между микробами, пронизывающее все уровни организации живой материи, является магистральным направлением, которое сегодня занимает все большую нишу в научных исследованиях во всем мире [5–9].

Ассоциированное состояние — явление, универсальное для подавляющего большинства представителей микромира. Оно играет определяющую роль среди механизмов межвидового обмена и обеспечивает, таким образом, их распространение в биосфере. Это состояние отражает также один из путей эволюционного развития и инволюционных изменений, полезных с точки зрения сохранения биологического вида в окружающей среде [7]. Взаимодействия

между микроорганизмами в этих сообществах построены на основе интеграционно-конкурентных взаимоотношений, обеспечивающих стабильность существования любых биологических систем [8].

Самостоятельное обитание в почве или воде различных болезнетворных микробов, а также всевозможные связи с почвенными и водными организмами способствуют тому, что они становятся полноправными сочленами естественных экосистем [2]. Между отдельными представителями микрофлоры, а также группами бактерий зарождаются сложные экологические взаимоотношения [10]. Микроорганизмы такого сообщества влияют друг на друга и могут либо соперничать, либо сотрудничать между собой. Несмотря на то, что в последние годы существенно увеличивается количество публикаций по обозначенной проблеме, исследования, охватывающие далеко не все возможные варианты взаимодействий между различными микроорганизмами, находятся на начальном этапе и пока еще в меньшей степени направлены на познание непосредственных механизмов взаимодействия.

Возбудители сапронозов, обитая в разных экосистемах и сталкиваясь с потенциально опасными неблагоприятными факторами, в процессе эволюции сформировали определенные адаптационные стратегии генетической саморегуляции, обеспечивающие им высокую экологическую пластичность и возможность существования в окружающей среде и организме человека. Исследования по проблеме сапронозов, позволившие, в частности, расшифровать механизмы формирования заболеваемости, разработать теорию психрофильности патогенных бактерий, стали проводиться в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова одними из первых в мире. Однако выявление ранее неизвестных фактов в микробиологии и эпидемиологии сапронозов продолжают стимулировать ученых на поиск и развитие новых направлений в постижении этой сложной проблемы. Появляется все больше данных о том, что присутствие микроорганизмов в природной среде определяется не только ее условиями, но и наличием контроля со стороны других микроорганизмов, продуцирующих соединения, которые могут действовать как внутривидовые или межвидовые регуляторы [10]. Разрабатываются вопросы, связанные с изучением взаимодействия сапронозных микроорганизмов с сапрофитными микробами, заселяющими основные сферы пребывания сапронозов, и их эпидемиологической значимостью.

В природе бактерии чередуются между двумя способами роста: планктонной фазой одноклеточной жизни, в которой клетки свободно плавают, и фазой многоклеточной жизни, в которой микробные взаимодействия (включая генетический обмен, сигнализацию и обмен метаболитов) происходят в биопленках [5]. Биопленки, представляющие собой сообщество одного или нескольких видов бактерий, прикрепленных к поверхности или друг к другу и заключенных в матрикс, состоящий из экзополисахаридов, белков, внеклеточной ДНК и других веществ, обеспечивают бактериям экологические и физиологические преимущества, являются защитным физическим барьером для неспецифической и специфической защиты хозяина во время инфекции и увеличивают толерантность к антимикробным агентам за счет уменьшения диффузии этих соединений [9, 11, 12]. При этом становится все более понятным, что в естественных условиях биопленки чаще формируются не одним, а несколькими видами бактерий [5], поскольку общинный образ жизни является предпочтительным способом роста и выживания для многих их видов. Микробное разнообразие в этих сообществах приводит к формированию сложных взаимосвязей, включающих как межвидовые, так и внутривидовые взаимодействия [5]. Стабильность микробного сообщества может быть достигнута только тогда, когда устанавливается естественный баланс между различными микроорганизмами в пределах одной биологической ниши, и этот баланс часто является результатом «войны и мира» – постоянной деятельности, которую испытывают все члены сообщества. В этой связи особо значимой является попытка понять сложность межбактериальных взаимодействий, как конкурентных, так и кооперативных (интеграционных), которые могут встречаться в таких консорциумах. Однако экспериментальные исследования в этом плане немногочисленны.

Listeria monocytogenes относится к возбудителям сапронозов. В окружающей среде эти бактерии распространены на растительных объектах, встречаются в почве и в воде. В зависимости от среды обитания она способна вести как паразитический (при попадании в теплокровный организм), так и сапрофитический (нахождение в окружающей среде) образ жизни [16]. Проводимые исследования в области морской эпидемиологии [14] демонстрируют все увеличивающееся техногенное загрязнение вод Мирового океана, что сказывается на качестве морского сырья. Привнесение патогенных микроорганизмов морскую среду может быть обусловлено паводковыми и грунтовыми водами или загрязнением вод канализационными стоками, что представляет потенциальную опасность для населения. Так, например, зараженные *L. monocytogenes* двустворчатые моллюски регулярно являются причиной вспышек листериоза во всем мире [14]. Биопленки, образованные патогенными штаммами вибрионов, создают серьезные проблемы для развития морской аквакультуры [15].

Выживаемость патогенных бактерий в почве также может быть обеспечена благо-

даря формированию микробных биопленок. Болезнетворные микробы существуют не просто в абиотической внешней среде, а являются сочленами сложных почвенных экосистем, которые взаимодействуют с остальными компонентами почвенной биоты [16].

В этой связи одним из важнейших способов контроля эколого-эпидемической обстановки, как мы полагаем, должно быть исследование микроорганизмов, оказывающих положительное влияние на биопленкообразование и сохранение патогенных бактерий в почвенных и водных экосистемах, так как сформировавшиеся совместные между ними биопленки способны содействовать распространению и устойчивому существованию возбудителей, что является угрозой для здоровья и жизни населения. В связи с этим вышеуказанная проблема становится актуальной и нуждается в осуществлении экспериментальных исследований, результаты которых представлены в данной работе.

Цель работы – в модельных экспериментах оценить способность сапротрофных бактерий, выделенных из почвы и из морской среды, формировать биопленки с бактериями (на примере *Listeria monocytogenes*), а также установить характер взаимодействия микроорганизмов с интродукционными бактериями в биопленке.

Материалы и методы. Исследования проводились по двум направлениям: изучение возможности образования смешанных биопленок листериями с сапрофитными морскими микроорганизмами (1) и почвенными бактериями (2).

Для проведения исследований по первому направлению были выбраны прибрежные акватории Японского моря: бухта Находка, испытывающая значительное влияние промышленных и бытовых стоков, и залив Восток, обремененный поступлением в него органических загрязняющих веществ. Пробы воды отбирались в летний период при температуре 20 °С. В ходе микробиологических исследований было выделено 35 штаммов (тест-культур) сапротрофных морских микроорганизмов: 17 из воды бухты Находка, 18 из воды залива Восток.

Для формирования смешанных биопленок в работе использовали штамм *L. monocytogenes* (музейный инвентарный номер 870) из коллекции ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» Роспотребнадзора. Культивирование *L. monocytogenes* проводили на дифференциально-диагностической среде для листерий ДДСЛ при комнатной температуре (20 °С) [17]. Морские микроорганизмы культивировали в концентрации 10³ КОЕ/мл в жидкой среде для морских микроорганизмов (СММ) при температуре 20 °С в течение трех суток [18]. При реализации второго направления в качестве объектов исследования также были использованы штаммы микроорганизмов из лабораторной коллекции НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова: *L. monocytogenes* 12731/8-8097, 9156/2 и 6642/6 № 315. В качестве тест-культур использовали изоляты бактерий (Почв № 1 – Почв № 24), ранее выделенные из образца почвы, отобранного на территории животноводческого

хозяйства. Для культивирования почвенных микроорганизмов использовали питательную среду с добавлением кормовых дрожжей (КД) с 1%-й глюкозой¹.

Идентификацию сапрофитических штаммов, как морских, так и почвенных, проводили стандартными микробиологическими методами на основе изучения их морфологических, культуральных и биохимических свойств. Для определения родов исследуемых бактерий проводились дифференцирующие тесты в соответствии с определителем Берджи. Результаты первичной идентификации по определителю Берджи и идентификации с помощью API-тестов (API 20 NE, API 20 E и API 50 CHB) исследуемых микроорганизмов интерпретировали с использованием электронной базы данных (apiweb.biomerieux.com).

Выявление моно- и смешанных биопленок микроорганизмов проводили на абиотической поверхности, с применением спектрофотометрического метода в нашей модификации. Оптическую плотность измеряли в течение трех суток инкубации в 96-луночных планшетах (соблюдая 3-кратную повторность) на планшетном ридере Labsystems iEMS Reader MF, BioRad, при $\lambda = 540$ нм. Контролем служили лунки со средой без бактерий. Рассчитывались средние арифметические значения из n-числа повторностей (где n = 3) для каждого конкретного варианта эксперимента.

Для исследования динамики размножения бактерий как почвенных, так и морских в монокультуре и в ассоциации учитывали количество микроорганизмов в планктонной и биопленочной фазах. Рост биопленок, сформированных каждым штаммом, исследовали на чашках Петри по отработанной нами методике [19]. Учет численности определялся числом колониеобразующих единиц в 1 мл (КОЕ/мл). Метод подсчета колониеобразующих единиц позволяет оценить жизнеспособность клеток в биопленке, а также показать соотношение числа клеток *L. monocytogenes* и бактерий-ассоциантов в смешанной биопленке.

Статистическую обработку результатов проводили в программе Microsoft Office Excel 2007. Критический уровень значимости критериев был принят как $p < 0,05$.

Результаты исследования. Результаты исследования показали, что независимо от среды, в которой проводились эксперименты, и листерии,

и испытываемые почвенные и морские сапрофитические микроорганизмы формировали как монобиопленки, так и смешанные биопленки. Штаммы микроорганизмов, выделенные из почвы, по-разному влияли на формирование смешанных биопленок со штаммами *L. monocytogenes*. Из трех штаммов листерий, использованных в эксперименте, наиболее чувствительным к присутствию почвенных бактерий оказался штамм *L. monocytogenes* 6642/6 № 315.

По итогам проведенных экспериментов было выбрано 7 почвенных штаммов, обладающих высокими биопленкообразующими свойствами в ассоциации с *L. monocytogenes* 6642/6 № 315. Результаты их идентификации представлены в таблице. Наибольшее стимулирующее влияние на *L. monocytogenes* оказали штаммы *Bacillus pumilus* (Почв № 24), *Serratia liquefaciens* (Почв № 9), *Pseudomonas luteola* (Почв № 5), увеличивая численность патогена в смешанных биопленках в 2,4–3,5 раза чаще по сравнению с контролем. Близкие результаты были получены и в аналогичных работах зарубежными учеными [20].

Вместе с тем подавление роста листерий отмечалось при совместном культивировании со штаммами *Acinetobacter sp.* (Почв № 6), *Acinetobacter baumannii* (Почв. № 13), *Bacillus thuringiensis* (Почв № 16) и *Bacillus subtilis* (Почв № 20). В этом случае наблюдалось увеличение КОЕ/мл тест-культур, тогда как численность *L. monocytogenes* в смешанной биопленке была меньшей по сравнению с монобиопленкой (контролем).

Отметим, что сроки образования зрелой биопленки с *L. monocytogenes* были видоспецифичными: все используемые в работе бактерии рода *Bacillus* формировали биопленку на 2 сутки культивирования; *Acinetobacter sp.* и *Acinetobacter baumannii* – на 3 сутки.

Для определения способности биопленкообразования листерией в консорциуме с морскими сапрофитическими микроорганизмами использовали штамм, идентифицированный как *Flavobacterium sp.* (выделен из морской воды залива Восток, порядковый номер 9), поскольку он обладал наиболее высокими биопленкообразующими свойствами из всех штаммов морских микроорганизмов, использованных в эксперименте. Было установлено, что на 2 сутки культивирования в смешанной биопленке численность *L. monocytogenes* значительно превышала численность *Flavobacterium sp.*,

Таблица. Результаты идентификации исследуемых микроорганизмов, обладающих высокими биопленкообразующими свойствами в ассоциации с *L. monocytogenes* 6642/6 № 315

Table. Results of identifying the microorganisms with biofilm formation properties under study in association with *L. monocytogenes* 6642/6 № 315

Шифр исследуемых штаммов / Strain ID	Видовая принадлежность / Species
Почв № 9	<i>Serratia liquefaciens</i>
Почв № 6	<i>Acinetobacter sp.</i>
Почв № 11	<i>Pseudomonas putida</i>
Почв № 13	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Почв № 16	<i>Bacillus thuringiensis</i>
Почв № 20	<i>Bacillus subtilis</i>
Почв № 24	<i>Bacillus pumilus</i>

¹ Егорова П.С. Практикум по микробиологии. М.: Изд. МГУ, 1976. 307 с.

демонстрируя возможность стимуляции роста. *L. monocytogenes* из смешанной биопленки активнее размножался на вторые сутки культивирования по сравнению с моновидовой биопленкой, численность бактерий была выше на 2 порядка ($1,82 \pm 0,03 \times 10^8$; $8,88 \pm 0,02 \times 10^6$). *Flavobacterium sp.* как в монокультуре, так и в смешанной биопленке демонстрировали практически одинаковые темпы роста.

Проведенное сравнительное экспериментальное исследование возможного взаимодействия *L. monocytogenes*, относимой к сапронозам, и сапрофитных штаммов, выделенных из почвы и морской среды, показало, что важной стратегией сохранения листерий во внешней среде является реализация ими возможности биопленкообразования как в варианте моноплёнки, так и в сочетании с сапрофитными морским и почвенными штаммами микроорганизмов. При этом почвенные микроорганизмы оказались способны и стимулировать, и угнетать рост листерий в смешанной биопленке, тогда как морские микроорганизмы в большей степени стимулировали рост патогенных бактерий. При этом отношения между почвенными микроорганизмами, микроорганизмами морской среды и *L. monocytogenes* являются штаммоспецифичными, так как был обнаружен различный стимулирующий эффект на совместную биопленку с разными штаммами *L. monocytogenes*.

Важно подчеркнуть, что к главным факторам, которые способствуют поддержанию структуры, стабильности и продуктивности сообществ микроорганизмов, относятся межпопуляционные взаимодействия, которые осуществляются через продукты метаболизма. Ранее было показано, что выделяемые сапротрофным штаммом метаболиты способны оказывать стимулирующее влияние на рост *L. monocytogenes* [20]. Возможно, и в представленных нами экспериментах именно метаболиты активировали рост *L. monocytogenes*.

Вывод. Бактерии смешанного микробного сообщества, живущего в биопленке, могут взаимодействовать друг с другом путем конкуренции либо сотрудничества. Такое сотрудничество между разными штаммами микроорганизмов, находящимися в почве или морской среде, может способствовать лучшей адаптации и выживаемости патогенных бактерий, что отражает эпидемиологическую значимость и потенциальную опасность морской и почвенной сред.

Информация о вкладе авторов: Яковлев А.А. — обобщенный анализ всех полученных данных; написание текста рукописи; обзор публикаций по теме статьи; Еськова А.И. — дизайн исследования, постановка и проведение экспериментов, анализ полученных данных; Пономарева А.Л. — дизайн исследования, постановка экспериментов; анализ полученных данных; Корнюшина А.А. — проведение экспериментов; анализ полученных данных.

Финансирование: исследование проведено без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы (пп. 4–6, 11, 12, 15 см. References)

1. Сомов Г.П., Литвин В.Ю. Сапрофитизм и паразитизм патогенных бактерий: экологические

аспекты. Новосибирск: Наука, Сибирское отделение, 1988. 208 с.

- Литвин В.Ю., Гинцбург А.Л., Пушкарева В.И., Романова Ю.М., Боев Б.В. Эпидемиологические аспекты экологии бактерий. М.: Фармпринт, 1998. 229 с.
- Панин А.Л., Белов А.Б. Актуальные теоретические вопросы эколого-эпидемиологической концепции сапронозов и возможные пути их решения // Успехи современной биологии. 2018. Т. 138. № 4. С. 352–372
- Миллер Г.Г. Биологическое значение ассоциаций микроорганизмов // Вестник РАМН. 2000. № 1. С. 45–51.
- Яковлев А.А., Раков А.В., Поздеева Е.С. Значение межвидовых и внутривидовых взаимодействий микроорганизмов как суборганизменного уровня в иерархии эпидемического процесса // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2020. № 25 (3) С. 118–128.
- Тимченко Н.Ф., Раков А.В., Терентьева Н.А., Псарева Е.К., Яковлев А.А. Характеристика смешанных биопленок бактерий семейства Enterobacteriaceae *Yersinia pseudotuberculosis* и *Salmonella Enteritidis* in vitro // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2019. № 1(77). С. 19–22.
- Бухарин О.В. Симбиотические взаимоотношения микроорганизмов при инфекции // Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии. 2013. № 1. С. 93–97.
- Сомов Г.П., Бузолева Л.С. Адаптация патогенных бактерий к абиотическим факторам окружающей среды. Владивосток: Примполиграфкомбинат, 2004. 167 с.
- Яковлев А.А. Морская эпидемиология. Владивосток: Медицина ДВ, 2004. 132 с.
- Сидоренко М.Л., Бузолева Л.С., Костенков Н.М. Влияние свойств почв на сохранение и размножение листерий и иерсиний // Почвоведение. 2006. Т. 39. № 2. С. 211–217.
- Глазырина Т.А., Бузолева Л.С., Зайцева Е.А., Сомов Г.П. Дифференциально-диагностическая среда для выделения листерий. Патент РФ на изобретение № 2184782. 11.02.1999. Доступно по <https://patents.google.com/patent/RU2184782C2/en?q=2184782>. Ссылка активна на 01.04.2021.
- Бузолева Л.С. Способ приготовления питательной среды для учета сапрофитных гетеротрофных бактерий в морской воде. Патент РФ № 2425870. 10.08.2011. Бюлл. № 22. Доступно по: <https://patents.google.com/patent/RU2425870C1/ru>. Ссылка активна на 01.04.2021.
- Еськова А.И., Яковлев А.А., Ким А.В. Моделирование межвидового взаимодействия *Yersinia pseudotuberculosis* и *Listeria monocytogenes* в поликультуральной биопленке с микроорганизмами, выделенными из прибрежных вод Японского моря // Бюллетень экспериментальной медицины. 2020. Т. 170. № 10. С. 482–486.
- Сидоренко М.Л., Бузолева Л.С. Характер взаимоотношений сапрофитной микрофлоры почв через газообразные метаболиты // Микробиология. 2008. Т. 77. № 2. С. 273–277.

References

- Somov GP, Litvin VYu. [*Saprophytism and Parasitism of Pathogenic Bacteria: Ecological Aspects.*] Novosibirsk: Nauka, Siberian Branch Publ., 1988. (In Russian).
- Litvin VYu, Ginzburg AL, Pushkareva VI, Romanova YuM, Boev BV. [*Epidemiological Aspects of Bacterial Ecology.*] Moscow: Pharmprint Publ., 1998. (In Russian).
- Belov AB, Panin AL. Current theoretical issues of the ecological and epidemiological concept of sapronoses and possible ways of their decision.

- Uspekhi Sovremennoy Biologii*. 2018;138(4):352–372. (In Russian). doi: 10.7868/S0042132418040038
4. Fernandez L, Mercader JM, Planas-Felix M, Torrents D. Adaptation to environmental factors shapes the organization of regulatory regions in microbial communities. *BMC Genomics*. 2014; 15: 877. doi: 10.1186/1471-2164-15-877
 5. Comolli LR. Intra- and inter-species interactions in microbial communities. *Front. Microbiol.* 2014; 5:629. doi: 10.3389/fmicb.2014.00629
 6. Giaouris E, Heir E, Desvaux M. *et al.* Intra- and inter-species interactions within biofilms of important foodborne bacterial pathogens. *Front. Microbiol.* 2015; 6:841. doi: 10.3389/fmicb.2015.00841
 7. Miller GG. [Biological significance of associations of microorganisms.] *Vestnik RAMN*. 2000;(1):45–51. (In Russian).
 8. Yakovlev AA, Rakov AV, Pozdeeva ES. Significance of interspecies and intraspecies interactions of microorganisms as a sub-organism level in the hierarchy of the epidemic process. *Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni*. 2020;25(3):118–130. (In Russian). doi: 10.17816/EID50013
 9. Timchenko NF, Rakov AV, Terentyeva NA, Psareva EK, Yakovlev AA. Characteristic of the mixed bacteria of the *Enterobacteriaceae* family *Yersinia pseudotuberculosis* and *S. Enteritidis* *in vitro*. *Zdorov'ye. Meditsinskaya Ekologiya. Nauka*. 2019;(1(77)):19–22. (In Russian). doi: 10.5281/zenodo.2592503
 10. Bukharin OV. Symbiotic interactions of microorganisms during infection. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii*. 2013;(1):93–97. (In Russian).
 11. Lee KWK, Periasamy S, Mukherjee M, Xie C, Kjelleberg, Rice SA. Biofilm development and enhanced stress resistance of a model, mixed-species community biofilm. *ISME J*. 2014;8(4):894–907. doi: 10.1038/ismej.2013.194
 12. Høiby N. A short history of microbial biofilms and biofilm infections. *APMIS*. 2017;125(4):272–275. doi: 10.1111/apm.12686
 13. Somov GP, Buzoleva LS. [Adaptation of Pathogenic Bacteria to Abiotic Environmental Factors.] Vladivostok: Primpoligrafkombinat Publ., 2004. (In Russian).
 14. Yakovlev AA. [Marine Epidemiology.] Vladivostok: Meditsina DV Publ., 2004. (In Russian).
 15. You J, Xue X, Cao L. *et al.* Inhibition of *Vibrio* biofilm formation by a marine actinomycete strain A66. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2007;76:1137–1144. doi: 10.1007/s00253-007-1074-x
 16. Sidorenko ML, Buzoleva LS, Kostenkov NM. The effect of soil properties on the preservation and reproduction of *Listeria* and *Yersinia*. *Eurasian Soil Science*. 2006;39(2):211–217. (In Russian). doi: 10.1134/S1064229306020128
 17. Glazyrina TA, Buzoleva LS, Zaitseva EA, Somov GP. Differentialno-diagnosticheskaya sreda dlya vydeleniya listeriy. [Differential diagnostic medium for *Listeria* isolation.] Patent RUS No. 2184782, February 11, 1999. (In Russian). Accessed on April 1, 2021. <https://patents.google.com/patent/RU2184782C2/en?q=2184782>
 18. Buzoleva LS. Sposob prigotovleniya pitatelnoy sredy dlya ucheta saprofitnykh geterotrofnykh bakteriy v morskoy vode. [Method for preparing a nutrient medium for the assay of saprophytic heterotrophic bacteria in seawater.] Patent RUS No. 2425870, August 10, 2011. Bulletin No. 22. (In Russian). Accessed on April 1, 2021. <https://patents.google.com/patent/RU2425870C1/ru>
 19. Eskova AI, Yakovlev AA, Kim AV. Modeling of interspecific interaction of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Listeria monocytogenes* in a mixed-species biofilm with microorganisms isolated from coastal waters of the Sea of Japan. *Byulleten' Eksperimental'noy Meditsiny*. 2020;170(10):482–486. (In Russian). doi: 10.1007/s10517-021-05090-x
 20. Sidorenko ML, Buzoleva LS. Character of interactions of saprophytic soil microflora via gaseous metabolites. *Mikrobiologiya*. 2008;77(2):273–277.

