Б.Г. Андрюков, Н.Ф. Тимченко, М.П. Бынина

ЭКОЛОГО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ БАКТЕРИЙ РОДА *YERSINIA* В МОРСКИХ ЭКОСИСТЕМАХ ЗАЛИВА ПЕТРА ВЕЛИКОГО

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова», 690087, Владивосток, РФ

Последствия биологического загрязнения морей патогенными для человека и животных бактериями зависят от биотических и абиотических факторов морских экосистем, которые влияют на их жизнеспособность, а также реализации адаптационных стратегий микроорганизмов и механизмов сохранения ими патогенных свойств. В связи с высокой экологической пластичностью объектом все более пристального внимания экологов и эпидемиологов становятся энтеропатогенные виды *Yersinia*, которые в морских экосистемах быстро находят благоприятные условия для сохранения своей популяции, где их хозяевами становятся, в частности, гидробионты. В настоящем обзоре авторы представляют современные научные данные об эколого-эпидемиологическом значении в морских экосистемах энтеропатогенных видов бактерий рода *Yersinia*, влиянии на их жизнеспособность и реализацию патогенного потенциала основных биотических и абиотических факторов залива Петра Великого Японского моря – главного рекреационного ресурса южного побережья России на Дальнем Востоке. Приводятся также результаты собственных экспериментальных исследований (проведенных в 2003–2015 гг.) потенциального риска заражения человека энтеропатогенными видами бактерий рода *Yersinia* через объекты морской среды залива Петра Великого.

Ключевые слова: бактерии рода *Yersinia*, патогенный потенциал, адаптационные стратегии, морские экосистемы, биотические и абиотические факторы, залив Петра Великого, гидробионты.

Для цитирования: Андрюков Б.Г., Тимченко Н.Ф., Бынина М.П. Эколого-эпидемиологическое значение бактерий рода *Yersinia* в морских экосистемах залива Петра Великого. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2016; 2(65): 11–35. DOI: 10.18411/hmes.d-2016-072

Для корреспонденции: Андрюков Б.Г., доктор медицинских наук, e-mail: andrukov_bg@mail.ru

Поступила 11.02.16

Andryukov B.G., Timchenko N.F., Bynina M.P.

DOI: 10.18411/hmes.d-2016-072

ECOLOGICAL AND EPIDEMIOLOGICAL IMPORTANCE OF BACTERIA OF THE GENUS *YERSINIA* IN MARINE ECOSYSTEMS THE GREAT PETER BAY

Federal State Scientific Institution «Research Institute of Epidemiology and Microbiology named G.P. Somov», 690087, Vladivostok, Russian Federation

The effects of biological pollution of the seas pathogenic to humans and animals by bacteria depends on the biotic and no biotic factors of marine ecosystems, affecting their viability, as well as the implementation of adaptation strategies of microorganisms and preservation of the pathogenic properties of the mechanisms. *Yersinia* has a high ecological plasticity. They are subject to more and more attention of ecologists and epidemiologists. Enteropathogenic *Yersinia* species in marine ecosystems quickly find favorable conditions to maintain its population, where their hosts are aquatic. In this review, the authors present the latest scientific data on the ecological and epidemiological significance in marine ecosystems enteropathogenic species of bacteria of the genus *Yersinia*, the impact on their viability and implementation of the pathogenic potential of the main biotic and no biotic factors of Peter the Great Bay, Sea of Japan – the main recreational resources of the southern coast of Russia in the Far East. The results of our experimental studies (conducted in 2003–2015). Human infection potential risk enteropathogenic bacteria of the genus *Yersinia* species through marine environment objects Peter the Great Bay.

Keywords: bacteria of the genus of *Yersinia*, pathogenic potential adaptation strategies, marine ecosystems, biotic and no biotic factors of Peter the Great Bay, aquatic.

For citation: Andryukov B.G., Timchenko N.F., Bynina M.P. Ecological and epidemiological importance of bacteria of the genus *Yersinia* in marine ecosystems the Great Peter Bay. *Health. Medical ecology. Science* (in Russia). 2016; 2: 11–35. DOI: 10.18411/hmes.d-2016-072

For correspondence: Andryukov B.G., MD, e-mail: andrukov_bg@mail.ru

Conflict of interests. The authors are declaring absence of conflict of interests.**Financing.** The study had no sponsor support.

Received 11.02.16

Accepted 04.04.16

Введение. В последние десятилетия все большее внимание уделяется вопросам экологического взаимодействия возбудителей инфекционных заболеваний с внешней средой [12, 18, 22, 41, 48 и др.]. Важность борьбы с инфекционными заболеваниями давно заслужила международное признание, а её актуальность вышла на новый уровень с появлением возможности использования междисциплинарного подхода, который сочетает в себе медицину с молекулярной биологией, экологической микробиологией и биотехнологией [49, 50].

Значение такого подхода особенно актуально при изучении последствий биологического загрязнения морей патогенными для человека и животных микроорганизмами. К настоящему времени из морской среды были выделены разные виды патогенных бактерий, и вероятность их попадания в организм человека зависит от факторов, которые влияют на их жизнеспособность. Изучение механизмов выживания, размножения патогенных бактерий и образование их колоний в морской воде в лабораторных условиях были основным параметром, используемым для характеристики бактериальных ответов на влияние различных биотических и абиотических факторов [50, 58]. Однако с появлением методов молекулярной биологии, начали появляться все большее число исследований адаптационных стратегий бактерий, использующих дополнительные критерии сохранения жизнеспособности и их генетической регуляции [42, 50, 56, 58].

В связи с высокой значимостью проблемы для общественного здравоохранения, а также познания механизмов бактериального ответа на экологический стресс, многочисленные исследователи изучали адаптационные стратегии энтеробактерий после их попадания в морские экосистемы, а также механизмы сохранения ими патогенных свойств. Многие из этих исследований были вызваны необходимостью оценить инфекционный риск для здоровья купающихся. Кроме того, известно, что бактериальное загрязнение неблагоприятно сказывается на разведении объектов марикультуры или прибрежном промысле гидробионтов [6, 42, 50, 59, 61].

В длинном ряду энтеробактерий, ставших объектом исследований, особое внимание занимают энтеропатогенные виды *Yersinia*, которые благодаря своим уникальным биологическим свойствам в течение последних 40 лет являются объектом пристального изучения не только инфекционистов и эпидемиологов, но и исследователей самых разных специальностей по всему миру [6, 27, 51, 103].

Бактерии рода *Yersinia* принадлежит к семейству *Enterobacteriaceae*. Род включает 17 видов, из которых *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis* и *Yersinia pestis* являются патогенными для человека [27, 45]. Иерсинии являются грамотрицательными, палочковидными, факультативно-анаэробными бактериями с психрофильно-олиготрофными свойствами и широким температурным диапазоном роста. Они устойчивы к действию низких температур и обитают в самых разных экологических средах [39, 51, 60, 75].

Основными причинами повышенного внимания к энтеропатогенным иерсиниям являются их повсеместное распространение и растущая заболеваемость псевдотуберкулезом и кишечным иерсиниозом – нозологическими формами, которые не совсем корректно объединяют общим диагнозом «кишечные иерсиниозы»; выраженный клинический полиморфизм; своеобразный патогенез, а также фенотипическая близость энтеропатогенных иерсиний к *Yersinia pestis* – возбудителю чумы [27, 45, 57, 65].

Изучение вопросов о резервуарах и источниках инфекций, вызванных бактериями рода *Yersinia*, имеет принципиальное значение, поскольку эти бактерии принадлежат к своеобразной группе микроорганизмов, которые кроме паразитирования в популяции животных и организме человека имеют выраженную сапрофитическую фазу, обеспечивающую их существование в окружающей среде [6, 29, 31, 33, 35].

По имеющимся сведениям, иерсинии обнаружены в тканях многих видов млекопитающих, птиц, земноводных, членистоногих и морских организмов [17, 34, 51]. Способность к спонтанному заражению иерсиниями наземных и морских организмов свидетельствует об отсутствии специфического хозяина и о повсеместном распространении этих микроорганизмов в природе [30, 32, 95, 98].

Иерсинии циркулируют в популяции мышевидных грызунов, которые считаются основным естественным резервуаром, формируя природные очаги инфекции. Заражение грызунов происходит энтеральным путем инфицированной пищей, и после развития инфекции грызуны в течение длительного периода времени обильно выделяют патоген в окружающую среду, что обеспечивает обсеменение возбудителем почвы, речных и морских экосистем [6, 30, 32, 64].

Ввиду экологической пластичности, бактерии рода *Yersinia* в окружающей среде быстро находят благоприятные условия для сохранения своей популяции. В последние годы в научной литературе обсуждаются вопросы сапрофитического существования их в морских экосистемах, где в качестве хозяев этого патогена могут служить гидробионты [11, 17, 34, 94, 95].

Экспериментальное воспроизведение процессов миграции иерсиний по трем различным трофическим путям морского сообщества (планктон–бентос–нектон) показало, что они способны распространяться по основным пищевым путям экосистемы, мигрируя от низших уровней к высшим, представляя эпидемическую угрозу заражения людей при купании, а также при употреблении в пищу зараженной рыбы или морепродуктов [38, 41, 52, 72].

Своеобразие климатических условий и уникальность живой природы залива Петра Великого Японского моря обуславливают его значение как главного рекреационного ресурса южного побережья России на Дальнем Востоке. Согласно критериям European Spas Association пофакторный анализ степени пригодности и безопасности акватории залива должен включать в себя экологическую оценку морской системы и возможность использования продуктов марикультуры [49].

Целью данного обзора является представление современных научных данных об эколого-эпидемиологическом значении в морских экосистемах энтеропатогенных видов бактерий рода *Yersinia*, влиянии на их жизнеспособность и реализацию патогенного потенциала основных биотических и абиотических факторов залива Петра Великого.

Материалы и методы. Поиск источников проводился в ресурсах Кокрановской библиотеки (директория Wiley Online Library), EMBASE (EMBASE.com), PubMed, PubMed Central, EMBASE и MEDLINE, интегрированных на платформе Elsevier, CINAHL, Web of Science и Health Economic Evaluations. Исследовались веб-сайты ВОЗ, ООН и европейских международных программ, занимающихся проблемами исследования морских экосистем. Стратегия выборки определялась поиском литературных источников по соответствующим ключевым словам, содержащимся в названии, аннотации и тематических каталогах. Глубина поиска – 1980–2015 гг. Приводятся также собственные результаты авторских исследований д.м.н. Н.Ф. Тимченко и соавт. (НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова и другие институты), проведенных в 2003–2015 гг.

Ключевыми задачами, которые предстояло решить, являлись: определение эколого-эпидемиологического значения энтеропатогенных видов иерсиний в морских экосистемах; анализ влияния биотических и абиотических факторов морской среды на *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*; выявление присутствия иерсиний в пробах морской воды и грунта в заливе Петра Великого, тканях морских организмов и водорослей.

Морские экосистемы и акватория залива Петра Великого

Океаны покрывают $3,6 \times 10^8$ км² (71% поверхности Земли) и содержат $1,4 \times 10^{21}$ л воды (97% от общего количества на Земле). Следовательно, они представляют собой самую крупную экосистему на планете, которая составляет более 90% от биосферы. Огромные ресурсы Мирового океана давно и активно используются людьми в качестве биологических продовольственных ресурсов, органической продукции и сырья для биотехнологии и создания лекарственных препаратов [7, 14, 28].

В морских экосистемах основным продуцентом питательных веществ является фитопланктон, состоящий из микроскопических водорослей, вирусов и бактерий. Море обеспечивает огромное разнообразие типов мест обитаний для микроорганизмов: во взвешенном состоянии в воде; связанные с частицами; в донных отложениях; на поверхности других организмов или неживых объектов или в органах и клетках других организмов. Каждый из этих мест обитаний предоставляет широкий спектр питательных веществ и окружения, что обеспечивает огромное разнообразие и обилие различных микробных видов. Физические (особенно температура и солнечная радиация) и химические факторы (особенно концентрации кислорода и питательных веществ) существенно влияют на распределение и активность различных видов микроорганизмов [78, 79].

Микроводоросли, бактерии и вирусы не являются единственными обитателями морских экосистем, где все большее значение приобретают разнообразные виды простейших, а также важнейшие для морской экологии и экономики человеческого общества группы морских организмов – рыбы, кораллы, ракообразные и водоросли, а также патогенные бактерии – мигранты морских экосистем.

Патогенные бактерии, вызывающие заболевания у людей, сравнительно редко рассматриваются в контексте морских экосистем. С морем люди жили в тесной связи на протяжении тысячелетий, и многие цивилизации активно развивались в прибрежных районах из-за важности их в качестве источника питания, транспорта и торговли. С прошлых веков морская аквакультура, рыбы и моллюски используются в качестве основных, наряду с традиционными, пищевых продуктов [42, 53].

Акватория залива Петра Великого. Залив Петра Великого – является уникальным явлением природы, наиболее богатая с точки зрения видового разнообразия акватория не только российского сектора Японского моря, но и всей России. Сочетание теплых и холодных течений, а также климатические условия, которые определяют видовой состав биоты, делают эту морскую экосистему одной из наиболее уникальных не только в России, но и для мирового сообщества. В настоящее время в заливе Петра Великого выявлено около 4000 видов морских организмов, в том числе, имеющих ценнейшее промысловое значение. Это существенно превышает подобные показатели не только для аналогичных акваторий, но и для отдельных морей Европейской части России, Арктического сектора, а также Дальнего Востока [12, 28].

Залив Петра Великого является самым большим заливом северной части Японского моря и представляет собой расчлененное мелководье глубиной от 10–20 до 200 м, переходящее в крутой материковый склон глубиной 1500–2000 м. Самый крупный

полуостров залива – Муравьева-Амурского – делит акваторию залива Петра Великого на две большие части – заливы второго порядка Амурский и Уссурийский. Режим вод залива определяют с севера хо-

лодное Приморское течение и теплое южное Цусимское течение [18, 20, 25]. В залив впадает несколько крупных рек (Туманная, Раздольная), а также много мелких рек и ручьев (рис. 1).

Рис. 1. Залив Петра Великого Японского моря и заливы второго порядка: Амурский, Уссурийский, Восток, Находка и Посыет

В холодный период года в этом районе Японского моря под действием муссона поверхностные воды сильно охлаждаются и создаются благоприятные условия для развития конвективного перемешивания. Предполагается, что проникновение вод с поверхности в глубинные слои здесь происходит не только за счет конвекции, но и вследствие развития нисходящих движений частиц воды на западной периферии циклонического круговорота, приуроченного к центральной части Японского моря [20, 23, 25, 28].

В прибрежной зоне залива Петра Великого температура поверхностного слоя воды не превышает летом в среднем 20–23°C. На мелководье, в кутовых частях Амурского залива и бухты Золотой Рог, в летнее время температура может достигать 27°C. Зимой температура воды опускается практически до минус 1°C во всей водной толще поверхности до дна. В шельфовой зоне Приморья в зимние месяцы холодные (температура ниже 0°C) и соленые (более 34,5‰) поверхностные воды, образующиеся при кристаллизации льда, опускаются в придонные горизонты, где сохраняются до марта и первой половины апреля. Интенсивное конвективное перемешивание и льдообразование в холодном секторе моря способствуют увеличению солености. Весной прекращается осенне-зимняя конвекция и усиливается таяние льда, что обуславливает опреснение и расслоение поверхностной толщи вод [19, 23, 25].

Начиная с апреля, происходит довольно быстрое изменение гидрологических условий. Весенний прогрев вод создает различия в вертикальном распределении температуры, которые со временем становятся все более резкими. Одной из характерных особенностей вертикальной термодинамики вод в летний период на шельфе Приморья является формирование двухслойной структуры под влиянием интенсивного прогрева воды. В летние месяцы отчетливо выражен поверхностный прогретый слой, с относительно низкой соленостью и малым содержанием биогенных элементов, и глубинный, с низкой температурой, высокой соленостью и высоким содержанием питательных солей. Границей между ними служит сезонный термоклин, располагающийся на глубине 10–30 м. В местах выхода термоклина на шельф формируется фронтальная зона, перепад температуры в которой, в зависимости от участков, изменяется от 2–3°C до 4–10°C на 1–2 мили. Причем, наибольшего развития фронтальная зона достигает в конце весеннего и начале летнего сезонов [18, 20, 21, 23]. Колебания pH в прибрежных водах незначительны как на поверхности, так и у дна во всех районах залива и составляет 8,0–8,5 [12].

Количество кислорода определяется с одной стороны физиологическими процессами, а с другой – химическими и биохимическими (фотосинтез и поглощение кислорода живыми организмами). Со-

держание кислорода зависит от температуры воды и общей минерализации (солености). Так при повышении температуры и солености растворимость O_2 понижается. Поэтому природные условия прибрежных частей залива Петра Великого способствуют обильному насыщению воды кислородом. В связи со значительными колебаниями температуры воды в разные сезоны года и, следовательно, растворимости кислорода, активизацией или затуханием фотосинтетической деятельности и изменениями скорости окислительных процессов содержание растворенного кислорода в различных участках залива неодинаково [17, 20, 21].

Развитие хозяйственной деятельности на побережье и акватории залива Петра Великого в течение последних 25–30 лет вызвало ухудшение экологической ситуации в отдельных его районах. Это связано главным образом с поступлением загрязнения от сточных вод, ливневых стоков, рек и ручьев, содержащие многокомпонентные смеси загрязняющих веществ минерального и органического происхождения, патогенные микроорганизмы.

Большая часть залива Петра Великого находится под сильным антропогенным прессом в связи с чем нуждается в постоянном контроле за содержанием загрязняющих веществ и параметров среды, обусловленных антропогенным воздействием. Оперативным методом контроля и мониторинга таких измерений является микробная индикация, характеризующая экологическую ситуацию в морских экосистемах залива [4, 6, 9, 12]. Антропогенные экологические факторы отражают воздействие человека на абиотические факторы экосистем залива. Так, загрязняющие вещества, поступая в морскую среду, изменяют ее основные гидрохимические характеристики – pH, соле-

ность, прозрачность, содержание кислорода, что разрушительно действует на биоту.

Основной проблемой залива является растущий рекреационный пресс, создаваемый отдыхающими на побережье с июля по сентябрь [12, 28]. В результате в районах наиболее популярных мест отдыха выявлялись сезонные повышения концентраций органических загрязняющих веществ, биогенов, а также численности энтеробактерий [6, 12, 28]. Исследования Журавель Е.В. и соавт. (2012) показали, что численность гетеротрофных микробов и бактерий группы кишечной палочки в водах залива носила ярко выраженный сезонный характер и зависела от температуры воды. Выявлена максимальная численность гетеротрофов в летние месяцы, когда температура достигала 19–23°C. Энтеробактерии регистрировались в водах залива Петра Великого только в летний сезон, что вполне закономерно, так как в этот период возрастает рекреационная нагрузка на залив [12].

Биотические и абиотические факторы морских экосистем и их влияние на энтеробактерии

Патогенные энтеробактерии при попадании в морские экосистемы подвергаются воздействию биотических и абиотических факторов среды, которая значительно отличается от условий кишечника человека или животных. При этом роль взаимодействия энтеробактерий с естественными обитателями морских экосистем является наименее исследованной проблемой современной морской биологии. Одним из актуальных вопросов биотических взаимодействий является проблема миграции иерсиний со сточными водами, а также исследование возможных последствий, возникающих в результате влияния факторов морских экосистем (табл. 1).

Таблица 1

Биотические и абиотические факторы морских экосистем, влияющие на энтеробактерии

Факторы		Источник
Биотические	Голодание и конкуренция за дефицитные нутриенты	39, 79, 94, 96.
	Бактериальные хищники	79, 85, 89, 95.
	Бактериоцидные и бактериостатические соединения (антибиотики)	79, 94, 95, 96, 108.
	Бактериофаги	55, 63–65, 70, 82, 83, 98, 100, 103, 104, 107.
Абиотические	Солнечное излучение	46, 47, 54, 59, 78, 79, 93, 94–96.
	Температура	1, 10, 29, 30, 40, 78, 90, 96.
	Активная реакция (pH)	15, 24, 78, 81, 94, 95.
	Соленость	11, 57, 75, 79, 95.
	Гидростатическое давление	57, 77, 79, 94, 96.
	Седиментация	79, 94–96.

Биотические факторы морских экосистем. Биотическое напряжение возникает при возникновении конкуренции энтеробактерий с естественными обитателями морской микробиоты за питательные вещества. При

этом сами энтеробактерии часто становятся объектом морских бактерий-хищников, воздействия бактериостатических и бактериоцидных веществ, выделяемых морскими организмами, и бактериофагов (рис. 2).

Рис. 2. Биотические и абиотические факторы морской экосистемы, влияющие на энтеропатогенные виды *Yersinia*

Голодание и конкуренция за дефицитные нутриенты. Энтеробактерии, находясь в кишечнике наземных животных или человека, не испытывают недостатка в питательных веществах, в то время как большинство натуральных морских экосистем характеризуются низким содержанием нутриентов, необходимых для роста микроорганизмов [97]. Таким образом, недостаток питательных веществ является одним из стрессов, с которыми кишечные бактерии сталкиваются при попадании в неестественную для них морскую среду.

Ряд научных лабораторных исследований, проведенных в конце XX и начале XXI веков, [39, 79, 94, 96], показали, что искусственное обогащение питательными веществами морской воды улучшает выживаемость патогенных энтеробактерий в морской экосистеме и в том числе некоторых видов *Yersinia* [94, 96]. В то же время, большинство современных исследователей признают, что роль и значение антагонистических отношений энтеробактерий и морских бактерий, связанных с конкуренцией за доступные питательные вещества, изучены недостаточно, а современное состояние вопроса ограничено только результатами нескольких ранних исследований [39, 79].

Бактериальные хищники. Некоторые виды морских микроорганизмов охотятся на другие бактерии. К ним относятся, например, представители семейства *Daptobacter spp.*, которые сначала выделяют антибактериальные вещества, чтобы убить свою жертву, а затем ферменты для лизирования бактериальных клеток. Применительно к *Yersinia*, для них наиболее известными из бактериальных хищников являются представители семейств *Bdellovibrio spp.* [79, 85, 89, 95] и менее изученные *Micavibrio spp.* [95], которые прикрепляются, проникают внутрь

и убивают грамотрицательные бактерии. Высокая специфичность и эффективность антибактериальных стратегий указанных бактериальных хищников была подтверждена результатами недавних исследований, проведенных Korajkic A. et al. (2014) на штаммах *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*, а также других энтеробактерий, которые дали основание рассматривать их в качестве перспективных «живых антибиотиков» [69].

В целом, роль бактериальных хищников в морской среде, как представляется, мало изучена. Гораздо больше информации о значении более крупных морских хищников – гетеротрофных наноплагеллятов [78, 94], амёб [79, 95], инфузорий [78, 85, 96], многоклеточный зоопланктон [94], а также двусторчатые моллюски [78], которые, по-видимому, являются основными потребителями бактерий в большинстве морских экосистем [89, 95].

Бактериофаги. Морские бактериофаги являются вирусами, поражающими морские бактерии. Они играют важную роль в морских экосистемах и, по мнению современных исследователей, значение морских бактериофагов недооценено [55, 63–65, 82, 83, 93, 100, 103, 104, 107].

По-видимому, морские бактериофаги являются наиболее многочисленной и разнообразной биологической формой реплицирующихся молекул ДНК на Земле. Они могут глобально воздействовать на биохимические циклы, регулировать биологическое разнообразие микробов, круговорот углерода в морских пищевых цепях и играют важную роль в предотвращении чрезмерного повышения численности морских бактерий [70, 71, 103, 104, 107]. Их многочисленность, строгая специфичность и способность убивать своих бактерий-хозяев определяют решающую роль в важнейших глобальных и локальных экологических процессах в Мировом океане. Кроме того, в арсенале факторов вирулентности фагов имеются токсины, которые играют важную роль в антибактериальной стратегии против патогенов человека [55, 63–65, 76, 83].

Среди бактериофагов, имеющих высокий тропизм в отношении энтеробактерий, хорошо охарактеризованы несколько видов *yersiniophages*, поражающих патогенные виды *Yersinia* – *Y. pseudotuberculosis* и *Y. pestis* (φA1122), а также *Y. enterocolitica* серотипа O:3 (φYeO3-12, YeO8, φ80-81, PY54 и φR1-37). Эти фаги в качестве рецептора используют различные части липополисахарида (ЛПС) бактериальной стенки иерсиний [63–65, 82, 84, 92, 98].

История *yersiniophages* ведет свое начало от Ф. Д'Эрелль (Félix d'Hérelle) – первооткрывателя бактериофагов, который в 1925 году изолировал противочумный фаг и использовал его для лечения больных [95, 96]. В следующие десятилетия были выделены еще несколько *Yersinia*-специфических фагов, в основном для диагностических целей [55,

63–65, 82]. Некоторые из этих фагов в конце XX века были подробно охарактеризованы [55, 63–65, 99, 101, 102] с целью выделения, изучения структуры и биосинтеза ЛПС, а также в качестве инструмента для исследований в области молекулярной биологии и бактериальной генетики. В этот же период были описаны ареалы обитания *Yersinia*-специфических фагов, в том числе, в морских экосистемах, а также впервые отмечена особенность антибактериальной стратегии *yersiniophages* – лизировать иерсинии только при температуре не выше 25°C вследствие снижения количества фаговых рецепторов на поверхности клеток при повышении температуры до 37°C [63, 65, 82, 83].

Абиотические факторы морских экосистем. Согласно современным данным, иерсинии являются факультативными паразитами, обладающими патогенными свойствами и сохраняющими способность существовать вне организма во внешней среде [29, 30]. Исследование влияния биотических факторов на энтеропатогенные иерсинии показало их тесную зависимость от абиотических факторов морских экосистем: солнечного излучения, температуры, pH,

солёности, гидростатического давления, седиментации и других [2, 3, 8, 26]. Эти факторы создают условия обитания растительных и животных морских организмов и оказывают прямое или косвенное влияние на их жизнедеятельность.

Солнечное излучение. Солнечное излучение (радиация) уже давно признано как фактор, способный инактивировать морские бактерии. В неглубокой и прозрачной морской воде, электромагнитная составляющая солнечной радиации в виде прямых и рассеянных лучей является доминирующим механизмом инактивации [46, 91, 108].

Солнце излучает энергию в широком диапазоне длин волн (300–3000 нм), при этом большая его часть находится в коротковолновом спектре – от 0,15 до 4 мк. Мировой океан имеет большое значение в сохранении баланса между приходящей и уходящей радиацией. Средняя температура Земли в отсутствие океана и атмосферы была бы -23°C с высоким контрастом между температурой на экваторе и полюсах. Наличие океана и атмосферы делает температуру Земли значительно выше, а контрасты – ниже (рис. 3).

Рис. 3. Влияние солнечного излучения на энтеропатогенные виды *Yersinia* в морских экосистемах

Инактивация бактерий, которая происходит под действием солнечного излучения, проходит с вовлечением в процесс сложного комплекса факторов, в том числе адсорбции различных длин волн в атмосфере и поверхностью воды, взаимодействием между длинами волн, которым бактерии подвергаются воздействию. Этот процесс зависит от времени экспозиции, видов бактерий, стадии их роста, а также синергетических взаимодействий с другими химическими, физическими и биотическими факторами [59, 78, 79, 93, 96].

Основная часть солнечной энергии достигает поверхности земли в виде видимого света и инфракрасного излучения и лишь незначительная – в виде ультрафиолетового (УФ) спектра. Научные исследования, проведенные в конце XX века [47, 54, 94, 95], показали, что наибольшим бактерицидным эффектом обладает УФ-спектр длин волн в диапазоне 250–280 нм, который задерживается верхними слоями атмосферы. В дополнение к этому более короткие длины волн далее ослабляются в морской воде вследствие их избирательного поглощения

растворенным в море органическим материалом [46, 59, 78, 79, 94].

По рекомендации II международного конгресса по фотобиологии УФ-диапазон электромагнитного излучения был условно разделен на поддиапазоны УФ-А (320–400 нм), УФ-В (295–320 нм) и УФ-С (100–295 нм), отличающиеся проникающей способностью и биологическим действием на живой организм [46, 78, 79, 95]. В механизмах действия каждого из этих диапазонов на живой организм есть существенные различия. Общее количество солнечной радиации на поверхности моря сильно зависит от высоты солнца в небе. Высота солнца и, соответственно, солнечный спектр (длина пути через атмосферу определяет степень, в которой поглощаются более короткие длины волн), изменяется в зависимости от широты, времени года и времени суток [46, 47, 54, 59, 78].

Несмотря на то, что наиболее повреждающие ультрафиолетовые волны не достигают поверхности океана (не более 3%), та часть солнечного спектра, которая непосредственно влияет на морские организмы (295–320 нм) обладает достаточным бактерицидным действием. Механизм их повреждающего действия на бактериальные клетки основан на «фотобиологическом» эффекте, который связан с повреждением нуклеиновых кислот [95, 96]. Молекула ДНК адсорбирует УФ-излучение, что приводит к образованию фотопродуктов в ДНК. Наибольшим повреждающим эффектом на ДНК обладает УФ-С, поглощающийся азотистыми основаниями нуклеиновых кислот. Однако поскольку УФ-С задерживается атмосферой, для бактериальных клеток наибольшую опасность представляет УФ-В [46, 47, 94, 96].

Образующиеся в ДНК в результате облучения димеры пиримидиновых оснований искажают молекулу ДНК [79, 94–96], что приводит к нарушению транскрипции ДНК на данном участке и возникновению мутаций [59, 78, 79, 94, 96], нарушается рост и деление клетки, передача наследственной информации.

Другие возможные механизмы повреждающего действия УФ-В включают в себя прямые повреждения ферментных систем каталазы [46, 47, 54], повреждения наружной мембраны бактериальной клетки [54, 59], а также ингибирование поглощения аминокислот [78, 79, 94–96]. Развитие в клетках дальнейших химических реакций приводит к гибели микроорганизмов. Чувствительность микроорганизмов к ультрафиолетовым лучам особенно велика в период деления и непосредственно перед ним. Кривые бактерицидного эффекта, торможения и роста клеток практически совпадают с кривой поглощения нуклеиновыми кислотами [93, 94–96].

Кроме фотолиза в бактериологических клетках под действием УФ-лучей происходят и другие изменения. Обычно молекулы белка имеют одинаковый электрический заряд. При облучении заряд молекул умень-

шается, они легко слипаются, выпадают в осадок, теряют свою активность, в частности, ферментную, гормональную, антигенную. Все эти процессы, вместе взятые, носят название денатурации. Процессы денатурации и фотолиза нуклеиновых кислот происходят параллельно и независимо друг от друга и приводят к прекращению деления и роста клеток микроорганизмов, а в больших дозах к их гибели [46, 47, 94–96].

Иной механизм повреждающего действия на бактерии у УФ-А (320–400 нм). Известно, что с увеличением длины волны излучения прямой бактерицидный эффект солнечной радиации уменьшается, но сохраняется, и происходит это более медленно, по механизму фотохимической реакции [54, 59, 78]. При участии кислорода, растворенного в морской воде, УФ-А-излучение вызывает образование в клетках активных форм кислорода (АФК) – синглетного кислорода, супероксида, перекиси водорода и гидроксила. Образовавшиеся АФК вызывают фотоокисление липидов, белков бактериальных клеток. По мнению G.C. Whitlam & G.A. Codd (1986), фотоокислительные процессы, происходящие в морской воде, являются наиболее активными в природе [110]. Экзогенным катализатором процесса является промышленное и бытовое загрязнение морской воды [78, 79, 96].

Несмотря на то, что фотобиологические повреждения бактериальных клеток являются летальными, многие энтеробактерии, в том числе *Yersinia*, имеют определенные механизмы исправления повреждений ДНК. Они включают фотореактивацию (или световую репарацию – действует только на пиримидиновые димеры) и темновую репарацию (восстановление нормальной структуры молекул) [46, 47, 54]. О важности процессов репарации у живых организмов свидетельствует тот факт, что в 2015 г. T. Lindahl, P. Modrich и A. Sancar получили Нобелевскую премию по химии за объяснение механизмов этого явления [цит по 75].

В экспериментальных исследованиях Davies-Colley B. et al. (1994) было оценено влияние солнечного излучения на энтеробактерии в морской экосистеме с примесью сточной воды. Результаты показали, что для инактивации 90% энтерококков обычно требуется в 2,3 раза более длительная инсоляция, чем для кокковых форм бактерий. Скорость и эффективность инактивации зависела от глубины и была минимальной при УФ-В-излучении (от 290 до 320 нм), которое проникает гораздо меньше в морской воде и, как оказалось, имеет второстепенное значение по сравнению с УФ-А и видимой частью спектра [47].

Однако результаты исследований были получены в лабораторных условиях, проводились в колбах или аквариумах, приближенных в естественным, без учета биотических факторов. Поэтому полученные результаты часто противоречат друг другу [46, 47, 54, 59, 78, 79, 94–96].

Температура. Температура среды обитания является одним из наиболее важных экологических сигналов, регулирующих активность химических, биохимических и биологических процессов в морских биосистемах. Она регистрируется патогенными бактериями и оказывает влияние на корректировку экспрессии их факторов патогенности, а также реализации механизмов выживания и размножения после попадания из холодной внешней среды в организм теплокровного хозяина и наоборот [1, 10, 29, 30, 40].

В морской воде энтеропатогенные бактерии сталкиваются с температурами значительно более низкими, чем в теплокровном организме (36–37°C). Однако, как показали эксперименты с морской водой, температуры выживания бактерий, как правило, ниже, чем оптимальные температуры роста [78, 90, 96].

Для *Yersinia* важной особенностью является психрофильность – свойство довольно редкое для патогенных бактерий. Температурозависимые свойства патогенных иерсиний отличаются от свойств других энтеробактерий. Ряд биологических признаков проявляются по-разному при температурах 37°C и ниже 30°C. Эти свойства являются следствием адаптации *Yersinia* к различным местам обитания: организму теплокровного животного и внешней среде [1, 10, 29, 30].

Температурный оптимум роста *Yersinia* составляет 28–29°C, но они могут расти в широком диапазоне температур (0–45°C). Иерсинии хорошо переносят холод и могут выдерживать многократное замораживание и оттаивание. Психрофильные свойства *Yersinia* позволяют им размножаться и сохраняться длительное время при низких положительных температурах, в том числе от 0°C до 4°C. Олиготрофность этих микроорганизмов дает возможность *Yersinia* накапливаться в самых неблагоприятных условиях внешней среды [29, 30, 40]. Эти свойства позволяют рассматривать энтеропатогенные иерсинии, в качестве выраженных факультативных психрофилов и перспективных биологических моделей для изучения температурозависимой модуляции патогенности микроорганизмов, связанной с молекулярными механизмами её индукции [1, 29, 30].

В исследованиях Bakhaldina S.I. et al. (2004) и Tyger P. et al. (2006) было показано, что в воде открытых водоемов иерсинии могут сохраняться до месяца, при этом хорошо переносят высокие (до 10%) концентрации хлорида натрия, особенно при низких температурах [40, 106].

Характерным биохимическим признаком патогенных видов *Yersinia* является наличие двух изоферментных систем, функционирующих самостоятельно во внешней среде и в теплокровном организме и способных переключаться в зависимости от конкретных условий существования микроорганизма [40]. Установлено, что при понижении температуры наблюдается интенсивное поглощение этими микрооргани-

змами питательных веществ и расщепление их внутри клетки. Кроме того, способность микроорганизмов расти при низких температурах зависела от строения и липидного состава клеточной мембраны. В частности, в липополисахаридах клеточных мембран иерсиний содержится больше ненасыщенных кислот, чем в липидах мембран мезофилов, вследствие чего цитоплазматическая мембрана постоянно находится в жидкокристаллическом состоянии даже при низких температурах. Было выявлено, что при выращивании бактерий при 37°C, каждый из энтеропатогенных видов *Yersinia* синтезирует ЛПС, содержащий, главным образом, тетра-ацилированную форму липида А, а при понижении температуры окружающей среды происходило относительное увеличение гекса-ацилированных форм. При этом некоторые отличия были выявлены в количестве и типах ацильных групп между видами иерсиний [30, 40, 90].

Однако указанные конформационные изменения ЛПС не дали ответа на главный вопрос: каким образом происходит регулирование метаболизма иерсиний в зависимости от температуры окружающей среды, и какие структуры бактериальной клетки ответственны за её «измерение». Ответ был получен в 2009 году [60].

Энтеропатогенные иерсинии, жизненный цикл которых связан с циркуляцией в природе между объектами окружающей среды (почва, вода) и организмами млекопитающих, характеризуется чередованием термических условий существования, часто используют механизмы температурного зондирования для регулирования экспрессии генов вирулентности. Немецкие исследователи Herbst K. et al. (2009) из Центра инфекционных исследований им. Гельмгольца открыли ранее неизвестный механизм контроля температуры патогенными видами *Yersinia*. Было установлено, что энтеропатогенные виды *Yersinia* обладают инструментом, обладающим свойствами уникального белкового термометра, в роли которого выступает протеин RovA (один из ДНК-связывающих белков) [60].

В самом общем виде RovA воспринимает изменения температуры непосредственно через изменения в конформации белка, тем самым модулируя его ДНК-связывающую способность. Этот же протеин в зависимости от температуры окружающей среды регулирует активность биологических функций бактерий, в том числе факторов патогенности. Было выявлено, что протеин RovA представляет собой многофункциональный сенсорный белок, измеряющий как температуру окружающей среды, так и контролирующий широкий спектр метаболических процессов в бактериальной клетке [60].

Таким образом, психрофильные свойства патогенных видов *Yersinia* способствуют сохранению эпидемиологической опасности при попадании их со сточными водами в море, поскольку холод не

только позволяет этим бактериям размножаться и накапливаться в объектах морской экосистемы, но и является пусковым фактором генетико-биохимических механизмов, обеспечивающих регуляцию их вирулентности.

Активная реакция (рН). Значение рН морской воды достаточно стабильный показатель, он обычно находится в пределах от 7,5 до 8,5 и зависит от температуры, давления, микробного фотосинтеза и дыхания [15, 24, 78, 81]. Наибольших значений (8,0–8,5) рН достигает в поверхностном слое океана благодаря интенсивному потреблению CO_2 при фотосинтезе. С увеличением глубины рН уменьшается, что связано с увеличением концентрации CO_2 [61].

В научной литературе достаточно мало сообщений о результатах исследований влияния рН морской воды на инактивацию бактерий, а имеющиеся – достаточно противоречивы [15, 24, 78, 81, 94, 95]. Основные выводы, сделанные из этих исследований, заключаются в том, что значения рН морской воды около 8,0 и выше вызывают стресс у микроорганизмов, подобный тепловому и подавляют активность энтеробактерий, хотя и не настолько выраженное, как другие абиотические факторы [81, 94, 95].

Большинство энтеробактерий растут в широком диапазоне значений рН окружающей среды от 5,0–8,0 и поддерживают гомеостаз цитоплазматических значений рН, которые лежат в узком диапазоне значений рН 7,4–7,8 [81]. Следовательно, бактерии обладают механизмами для поддержания значений цитоплазматической рН, которые совместимы с оптимальной функциональной и структурной целостностью цитоплазматических и мембранных белков, которые поддерживают жизнеспособность и рост.

В обзоре Padan E. et al. (2005) приводится ряд таких механизмов, которые используют энтеробактерии для выживания в морской воде: (1) увеличение производства метаболитических кислот через дезаминирование аминокислот и ферментацию глюкозы; (2) увеличение активности АТФ-синтазы; (3) изменение химических свойств внешней мембраны и (4) повышением активности одновалентных Na^+/K^+ антипортеров [81].

Для энтеропатогенных видов *Yersinia* оптимальные значения рН находятся в диапазоне 7,6–7,9; диапазон роста – 4,6–9,0 [27, 29, 30]. В исследованиях О.Д. Новиковой (2007) было показано, что при изменении значения рН среды порообразующий белок *Y. pseudotuberculosis*, иерсинин, претерпевает два конформационных перехода – функциональный и денатурационный, что, вероятно, служит дополнительным механизмом адаптации иерсиний к изменению условий внешней среды [15, 24].

Однако, как показали недавние исследования, в адаптационных стратегиях патогенных видов *Yersinia* значительную роль играют и Na^+/K^+ антипортеры [78, 81].

Соленость. Содержание соли в морской воде обычно составляет около 35‰ [11, 13, 57]. Таким образом, энтеробактерии, попадая в море, подвергаются немедленной опасности экзогенного воздействия увеличения осмотического давления и угрозы обезвоживания [11, 75]. Экспериментальные исследования показали, что для защиты от неблагоприятных условий, связанных с соленостью морской воды, бактериальные клетки используют ряд защитных систем, чтобы избежать резкой потери воды из цитоплазмы. Они связаны с перемещением бактерий в верхние или прибрежные слои морских акваторий, где соленость меньше или индукцией эндогенного синтеза специфических молекул (осмопротекторов), которые играют роль осмотических стабилизаторов [57, 95].

В литературе имеются сообщения о выделении разных видов иерсиний из морской воды и морских гидробионтов [17, 33, 34, 51]. В экспериментах показано, что в морской воде (соленость 32‰) *Y. pseudotuberculosis* живут недолго, но при этом они формируют биопленку в воде и на абиотической поверхности [32, 33]. При распреснении воды (до 16‰ и ниже) они могут выживать в ней, а также в организме гидробионтов, в том числе представителей иглокожих: морских ежей (*Strongylocentrotus nudus*) [17] и голотуриях – кукумари (*Eupentacta fraudatrix*) [34, 94] и дальневосточном трепанге (*Apostichopus japonicus*) [17, 57]. Ввиду высокой приспособляемости бактерий рода *Yersinia* к факторам и условиям внешней среды в настоящее время обсуждаются вопросы возможности их обитания в морской среде и значимости этого феномена в эпидемиологии и микробиологии псевдотуберкулеза [17, 57, 94].

У энтеропатогенных видов *Yersinia*, как и у большинства кишечных бактерий, относящихся к семейству *Enterobacteriaceae*, функции таких стабилизаторов выполняют ионы калия, глицин-бетаин и трегалоза, которые часто усиливают действие друг друга [94, 97]. Однако, как показали исследования Nan Y. et al. (2005), указанными системами не ограничиваются защитные механизмы от гиперосмотического стресса и избыточной солености. Авторами было показано, что эти виды стресса вызывали у иерсиний дифференцированный ответ: они усиливали транскрипцию генов, ответственных за накопление в цитоплазме определенных белков и полисахаридов, а также вирулентных детерминант. При этом клеточные процессы бактерий в целом сильно угнетались [57].

Гидростатическое давление. Морские бактерии, как известно, присутствуют на больших глубинах в океане, где давления может превышать 1000 атм. Исследования, проведенные в конце XX века, показали, что на энтеробактерии губительно влияет гораздо меньшее давление, 500–600 атм [57, 61, 77, 79, 94, 96], а размножение, синтез белка и потребление питатель-

ных веществ ингибируются уже при 300 атм. Кроме того, активируется синтез специфических стрессовых белков [109]. Однако полученные данные основываются на результатах исследований, полученных в лабораторных условиях, которые носят модельный характер.

На практике гидростатическое давление увеличивается на 1 атм на каждые 10 м глубины, а канализационные водоотводы, как правило, выходят в море на глубине не более 200 м (20 атм), что, по крайней мере, на порядок ниже, чем давление, оказывающее ингибирующее действие на энтеробактерии [61].

Теоретически морские течения могли отнести энтеробактерии на большие глубины, однако, экспериментальные исследования показали, что движение, вероятнее всего, будет осуществляться в обратном направлении (к поверхности), так как сточные и речные воды, как правило, легче морской воды. Таким образом, увеличение гидростатического давления вряд ли будет оказывать существенное влияние на выживаемость кишечных бактерий в морской воде [61, 109].

Седиментация. Осаждение удаляет кишечные бактерии из толщи морской воды. Однако на общую концентрацию бактерий этот эффект является временным, так как турбулентные течения воды приводят к их ресуспендированию [79, 94–96]. Энтеробактерии, как и большинство взвешенных морских частиц, как правило, имеют отрицательный заряд, и, таким образом, взаимно отталкиваются. Тем не менее, в водах с высокой концентрацией ионов бактерии прикрепляются к поверхности взвешенных частиц, где они удерживаются Ван-дер-ваальсовыми силами и гидрофобными взаимодействиями [95, 96].

В исследованиях с пресной водой адсорбция бактериальных клеток индуцировалась путем добавления хлорида натрия [79, 94] и зависела только от гидрофобных характеристик клеточной стенки бактерий [79]. Эффект непрерывного осаждения прикрепленных к частицам бактерий проявляется повышением их концентрации в донных отложениях – морское дно под выходом сточных вод, как правило, содержит гораздо более высокие концентрации энтеробактерий [78, 79, 94, 95].

С точки зрения выживаемости кишечных бактерий, нахождение в донных отложениях защищает их от биотического и абиотического влияния морской экосистемы и, тем самым, повышают выживаемость, что имеет значение при определении общей бактериальной устойчивости [78, 79].

Таким образом, приведенные литературные данные, показывают, что на жизнеспособность кишечных бактерий и, в частности, энтеропатогенных *Yersinia*, оказывает влияние широкий спектр биотических и абиотических факторов морской экосистемы. Однако в лабораторных условиях влияние каждого из этих факторов изучалось отдельно, в естественной же морской среде существует высокая

степень взаимодействия между ними, возможно синергетическая. В то же время, степень относительного влияния этих факторов на жизнеспособность бактерий может изменяться в зависимости от особенностей морской акватории.

Многие крупнейшие города мира находятся на побережье, и отходы жизнедеятельности человека в огромных количествах хозяйственно-бытовые отходы ежедневно поступают в прибрежные воды, а вместе со сточными водами в море попадают и возбудители кишечных инфекций. В современных условиях для контроля состояния водной среды предлагается оптимизированная схема экологического мониторинга прибрежных экосистем (на примере залива Петра Великого), состоящая из 3 блоков: мониторинг исследования воздействия источников загрязнения; мониторинг состояния (качества) среды, мониторинг эффектов влияния на гидробионты [4, 5, 12, 17]. Для получения объективных результатов в мониторинговых исследованиях необходимо выбрать организмы-индикаторы и биомаркеры – молекулярные, клеточные, физиологические, организменные и популяционные параметры. Значительная часть из этих исследований была вызвана необходимостью оценить инфекционный риск для здоровья купающихся людей, связанный с этими бактериями при попадании их в море. Кроме того, бактериальное загрязнение неблагоприятно сказывается на разведении объектов марикультуры или прибрежном промысле гидробионтов [12, 28].

Оценка потенциального загрязнения и охрана общественного здоровья, привели к использованию колиформных бактерий в качестве индикаторов качества воды [СанПиН 2.1.4.1074-01]. Однако исследования, проведенные в ряде стран Европы и Америки, не выявили корреляции между наличием патогенных бактерий в двустворчатых моллюсках и их отсутствием в морской воде [36, 37, 42, 44, 53]. Это дало повод для Американской Национальной Академии наук прийти к выводу, что обнаружение фекальных бактерий группы кишечной палочки является недостаточным показателем для определения микробиологического качества и безопасности морской воды и гидробионтов [62, 67, 68, 78, 87, 111].

Среди важнейших энтеробактерий, связанных с фекальным загрязнением морских экосистем и представляющих угрозу здоровью человека через употребление зараженных морепродуктов, следует выделить патогенные бактерии рода *Yersinia*, обладающие психрофильными свойствами, занимают особое место. В научной литературе появляется все больше информации о том, что энтеропатогенные виды *Yersinia* следует рассматривать как возможный источник случайного заражения людей при купании или употреблении в пищу зараженной рыбы или морепродуктов [11, 33, 51, 60, 85, 88].

Адаптационные стратегии выживания патогенных бактерий в морских экосистемах

Формирование биопленок. Способность патогенных бактерий выживать в условиях воздействия биотических и абиотических факторов морских экосистем связана с их высокими адаптационными свойствами. Бактерии колонизируют новые среды обитания и это в большинстве случаев связано с их способностью формировать защитные структуры под названием биопленки. Эти структуры представляют собой сложные сообщества микроорганизмов, прикрепленных к поверхности или связанных между собой [47, 66, 79].

Традиционное восприятие бактерий, как одноклеточных форм жизни, глубоко укоренилось в парадигме чистых культур и планктонных взвесей. И эта парадигма до сих пор активно используется не только в клинических, но и научных исследованиях. И хотя выращивание на питательных средах и в бульонах чистых культур имеет бесспорное значение для изучения физиологии и морфологии бактерий, необходимо понимать, что в природных условиях в виде планктонных форм существуют только 4% микробной популяции. Основная форма существования бактерий во внешней среде связана с биопленками [83, 107, 109]. Свойства свободноживущих планктонных клеток и бактерий, входящих в биопленку, существенно различаются. Экологические микробиологи уже давно признали, что сложные бактериальные сообщества стали элементами биогеохимического цикла Мирового океана, который поддерживает гомеостаз морских экосистем [47, 66, 83, 107].

Особое значение имеет изучение формирования биопленки патогенными бактериями в морской воде. Все виды морских поверхностей, включая камни, животные и водоросли могут быть колонизированы ими в форме микробных сообществ. В начале XXI века были проведены экспериментальные исследования механизма образования биопленки ряда энтеропатогенных бактерий в модельной морской воде (*Shigella*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Yersinia pestis*) [16, 66, 79, 83, 109]. Они показали, что этот сложный динамический процесс регулируется многоуровневыми механизмами и обеспечивает соответствие метаболических процессов бактерий условиями их существования [16]. Биопленки обеспечивают эффективную защиту энтеробактерий от агрессивных воздействий факторов морских экосистем и резко повышают их устойчивость к противомикробным агентам, иммунной защите хозяина, механизмам очищения [83, 107].

В качестве сигналов, обуславливающих включение у планктонных форм механизмов перехода от свободного состояния к формированию биопленки, выступают изменения в содержании питательных веществ, температуры, осмолярности, pH среды, солености и других биотических и абиотических факторов, которые воздействуют на энтеропатогенные бактерии при попадании в морские экосистемы [47, 66].

Жизнеспособное, но некультивируемое состояние. Уникальной стратегией выживания, используемой многими бактериями в ответ на неблагоприятные условия окружающей среды, является приобретение ими состояния *viable but nonculturable* (жизнеспособного, но некультивируемого, VBNC). Бактерии, находящиеся в состоянии VBNC не могут быть выращены на обычных средах (они не образуют колонии на твердых средах и не изменяют внешний вид питательного бульона), но их существование может быть доказано с помощью других методов [76]. Концепция VBNC была предложена более 30 лет назад (Hu F.Z. et al., 1982), однако, до настоящего времени не утихают споры о корректности названия этого феномена и его биологическом значении для популяций бактерий, находящихся в состоянии экологического стресса, вызванного действием неблагоприятных факторов окружающей среды. Физиологическим следствием VBNC является длительное поддержание жизнеспособного состояния бактерий в неблагоприятных условиях. Это состояние является обратимым при изменении параметров окружающей среды [71, 79, 81].

В течение длительного времени состояние VBNC бактерий ассоциировалось с состоянием покоя. Однако с появлением современных протеомных, молекулярных и генетических методов исследования стала понятна разница между этими состояниями, основанная на оценке метаболической активности бактерий. Эти исследования показали, что при VBNC метаболическая активность бактериальной клетки снижена, но измеряема существующими методами, в то время как в состоянии покоя она не определяется [76, 77]. Таким образом, VBNC можно рассматривать как неактивную форму жизни бактерий, возрождающуюся в благоприятных условиях.

Для патогенных энтеробактерий такими патологическими условиями могут быть, в частности, воздействие биотических и абиотических факторов морских экосистем. Данный феномен может представлять реальную угрозу общественному здравоохранению, так как выявление патогенных бактерий в морской воде и гидробионтах общепринятыми методами становится неэффективным. Следовательно, диагностика состояния VBNC у энтеробактерий, находящихся в морских экосистемах имеет не только важное практическое значение, но и вносит свой вклад в изучение адаптационных механизмов микроорганизмов. Показано, что ряд патогенов, находящихся в состоянии VBNC в течение недель и месяцев могут явиться источником инфекций [71, 81, 91].

К настоящему времени предложен ряд эффективных молекулярных и генетических маркеров жизнеспособности для бактерий, находящихся в состоянии VBNC. Они включают в себя методы, подтверждающие целостность клеточных мембран

(определение жирнокислотного состава, белковых профилей и выявление мембранных лигандов), поглощение меченых аминокислот и состояние функциональной активности генов, ответственных за кодирование факторов вирулентности [76, 91].

Так, Rahman I. et al (1996) была доказано сохранение потенциальной вирулентности *S. dysenteriae* I в морской воде, которые находились в состоянии VBNC. Бактерии имели функциональный ген, кодирующий биологически активный токсин (STX), однако, при этом патоген терял инвазивные свойства [76]. Аналогичные данные получены при исследовании изменений биологических свойств в морской воде энтеротоксигенного штамма *E. coli* [79] и других грамтрицательных бактерий [77, 79, 81, 91]. Таким образом, результаты исследований доказывают, что некоторые биотические и абиотические факторы морских экосистем, такие как солнечное излучение, температура, соленость, pH, гидростатическое давление, а также низкое содержание питательных веществ могут вызвать состояние VBNC у патогенных энтеробактерий.

В настоящее время становится все более очевидным, что в состоянии VBNC, скрытом от обнаружения существующими методами, патогенные виды бактерий, в том числе возбудителей кишечных инфекций, в морских экосистемах сохраняются в виде биопленок, которые обеспечивают временную или длительную среду обитания.

Риск заражения человека энтеропатогенными видами бактерий рода *Yersinia* через объекты морской среды залива Петра Великого

С целью оценки влияния абиотических и биотических факторов морской среды залива Петра Великого на бактерии рода *Yersinia* и возможность реализации ими потенциала патогенности в лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии НИИ ЭМ были проведены экспериментальные исследования. Авторами установлено, что эти бактерии способны длительное время выживать в организме гидробионтов, анализ взаимодействия *Y. pseudotuberculosis* с морскими гидробионтами [11, 17, 32–35]. Полученные данные необходимы для понимания возможного характера их взаимоотношений с иерсиниями в условиях морских экосистем залива Петра Великого.

Основным направлением проведенного исследования является совершенствование комплексной микробиологической системы биотестирования и мониторинга морских экосистем залива Петра Великого. Микробиологический мониторинг гидробионтов – неотъемлемая часть современного биологического мониторинга, позволяющего контролировать и оценивать циркуляцию патогенных бактерий в морских биосистемах [3, 4, 11, 33].

Важные сведения получены Кузнецовым и соавт. (2006). С помощью бактериологического исследования 195 образцов морской воды, донных отложений и морских гидробионтов (планктон, двустворчатые моллюски) Амурского и Уссурийского заливов были изолированы бактерии рода *Yersinia* из 24 образцов (12,3%). Присутствие иерсиний обнаружено в пробах морской воды и грунта в разных точках Амурского и Уссурийского заливов и в тканях придонных колониальных моллюсков на плантациях их разведения [17].

При выявлении возможности существования патогенных и потенциально патогенных бактерий рода *Yersinia* в морской воде в эксперименте авторами была исследована жизнеспособность их популяции и при взаимодействии с морскими гидробионтами. Из 22 особей 6 видов моллюсков были выделены иерсинии у двух видов: у 2 из 9 анадар (*Y. intermedia*), у 2 из 5 корбикул (*Y. enterocolitica* IA, *Y. intermedia*, *Y. kristensenii*), суммарно у 28.6% этих моллюсков (у каждой четвертой особи). Микроорганизмы идентифицированы как принадлежащие к следующим видам: *Y. intermedia* (dominanta, обнаружена в 14 пробах) и в отдельных пробах *Y. enterocolitica* IA и II биоваров, *Y. kristensenii*, *Y. frederiksenii*, *Y. aldovae* и неидентифицированные виды.

К настоящему времени имеются сведения о влиянии абиотических и биотических факторов морской среды залива Петра Великого на бактерии рода *Yersinia* и возможности реализации ими потенциала патогенности [34, 35]. Определено влияние солености морской воды на морфологию и жизнеспособность энтеропатогенных иерсиний; изучен характер взаимодействия *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* с морскими беспозвоночными животными (тип иглокожие) и с одноклеточными водорослями. Обнаружена способность этих бактерий выживать в морской воде и в организме гидробионтов, а также формировать биопленки [33, 35].

Впервые в полевых условиях проведен комплексный микробиологический мониторинг циркуляции энтеропатогенных видов бактерий рода *Yersinia* в морских биосистемах залива Петра Великого. Изучены биологические и экологические свойства *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica*. Были выявлены особенности их биологических характеристик в сапрофитной и паразитической фазах их существования.

Для ответа на вопрос о возможности выживания патогенных видов *Yersinia* в морской воде залива Петра Великого при низкой температуре исследована численность *Y. pseudotuberculosis* в воде в сравнении с численностью в голотуриях *E. fraudatrix*, динамика изменений численности популяции микроорганизмов по признакам, детерминируемым плазмидой вирулентности (pVY). Обнаруже-

но, что в стерильной морской воде при температуре 6–8°C численность *Y. pseudotuberculosis*

поддерживалась на высоком уровне в течение длительного периода времени (рис. 4).

Рис. 4. Динамика численности *Y. pseudotuberculosis* в морской воде залива Петра Великого:
1 — стерильная вода; 2,3,4 — нестерильная вода.
Дозы инфицирования: 1 и 2 — 10^6 мк/мл; 3 — 10^5 мк/мл; 4 — 10^4 мк/мл.

При инфицировании нестерильной морской воды *Y. pseudotuberculosis* в концентрации 10^4 – 10^6 мк/мл была выявлена общая тенденция снижения числа бактерий: через 6–10 суток они не обнаруживались. Эта закономерность была характерна для рYV+ и рYV- бактерий. Однако при внесении в стерильную морскую воду большей концентрации иерсиний (10^9 /мл), они выживали в ней при температуре 6–8°C более 2-х месяцев. Следовательно, бактерии

Y. pseudotuberculosis при определенных условиях способны в течение достаточно длительного времени поддерживать жизнеспособность в морской воде. Кроме того, нельзя исключить вероятность того, что как и *Y. enterocolitica* [36], так и *Y. pseudotuberculosis* в морской воде могут переходить в некультивируемое состояние [43]. Другие представители рода *Yersinia* обнаруживались в морской воде при данной температуре в течение 10 дней после инфицирования (табл. 2).

Таблица 2

Статистические показатели количества выделенных бактерий рода *Yersinia* в морской воде Залива Петра Великого (соленость 32‰)

Дни наблюдений	Штаммы и виды бактерий рода <i>Yersinia</i> (lgKOE $\pm$ m) ³				
	<i>Y. pseudotuberculosis</i> , штамм 88(01)	<i>Y. enterocolitica</i> , штамм 164(3)	<i>Y. frederiksenii</i> , штамм 1242	<i>Y. kristensenii</i> , штамм 4761	<i>Y. intermedia</i> , штамм 6504
1	4,23 $\pm$ 0,09	5,96 $\pm$ 0,02	5,98 $\pm$ 0,06	6,00 $\pm$ 0,11	5,34 $\pm$ 0,11
2	4,24 $\pm$ 0,05	4,74 $\pm$ 0,04	5,31 $\pm$ 0,08	5,00 $\pm$ 0,07	3,94 $\pm$ 0,07
3	4,13 $\pm$ 0,05	4,87 $\pm$ 0,01	5,11 $\pm$ 0,05	4,44 $\pm$ 0,07	2,89 $\pm$ 0,08
4	н/иссл ¹	4,05 $\pm$ 0,07	4,86 $\pm$ 0,60	4,29 $\pm$ 0,03	3,32 $\pm$ 0,30
5	н/иссл	3,80 $\pm$ 0,03	4,89 $\pm$ 0,06	2,68 $\pm$ 0,02	н/иссл
6	2,49 $\pm$ 0,11	н/обн ²	4,53 $\pm$ 0,02	2,25 $\pm$ 0,06	н/иссл
8	н/иссл	н/обн	3,92 $\pm$ 0,03	0,87 $\pm$ 0,03	2,66 $\pm$ 0,13
9	1,26 $\pm$ 0,14	н/обн	2,24 $\pm$ 0,02	0,77 $\pm$ 0,24	1,82 $\pm$ 0,18
10	0,67 $\pm$ 0,19	н/обн	2,46 $\pm$ 0,09	0,33 $\pm$ 0,27	1,26 $\pm$ 0,14
12	н/иссл	н/обн	н/обн	н/обн	н/обн

Примечание: ¹ — показатель не исследовался; ² — бактерии не обнаружены; ³ — логарифм концентрации бактерий.

Продолжительность жизни *Y. pseudotuberculosis* и других видов иерсиний в морской воде в значительной степени зависела от её солёности (табл. 2 и 3). Так, при 32‰ и при 20‰ бактерии обнаруживались в ней в течение 15–20 суток, а при 16‰; 10‰ и 6‰ — в течение нескольких месяцев после инфицирования. Другие виды иерсиний (*Y. enterocolitica*, *Y. frederiksenii*, *Y. kristensenii* и *Y. intermedia*) в воде высокой солёности (32‰)

через 10 суток после заражения обнаружить уже не удалось (табл. 3).

При исследовании взаимодействия *Y. pseudotuberculosis* с морскими одноклеточными водорослями и его исхода установлено, что они в значительной степени зависели от вида водорослей, их структурной организации (табл. 4) [33].

К настоящему времени установлена способность патогенных и непатогенных видов бактерий

Таблица 3

Выделение *Y. pseudotuberculosis* в морской воде разной солености
(логарифмическая фаза роста)

Дни наблюдений	Число бактерий (lgKOE $\pm$ m) ¹ в морской воде, соленость (‰)			
	32‰	20‰	16‰	10‰
5	4,64 $\pm$ 0,32	4,55 $\pm$ 0,28	4,31 $\pm$ 0,08	5,55 $\pm$ 0,06
7	2,73 $\pm$ 0,69	4,08 $\pm$ 0,24	3,70 $\pm$ 0,16	5,78 $\pm$ 0,05
8	4,54 $\pm$ 0,13	4,89 $\pm$ 0,47	4,07 $\pm$ 0,03	5,70 $\pm$ 0,02
9	4,23 $\pm$ 0,16	3,98 $\pm$ 0,13	3,99 $\pm$ 0,04	6,04 $\pm$ 0,07
11	3,73 $\pm$ 0,27	3,98 $\pm$ 0,13	3,97 $\pm$ 0,24	6,15 $\pm$ 0,02
15	1,53 $\pm$ 0,23	2,3 $\pm$ 0,30	4,34 $\pm$ 0,01	5,86 $\pm$ 0,02
21	-	-	4,52 $\pm$ 0,04	5,32 $\pm$ 0,04
24	-	-	4,15 $\pm$ 0,03	5,21 $\pm$ 0,03
36	-	-	3,91 $\pm$ 0,18	5,37 $\pm$ 0,02
44	-	-	4,24 $\pm$ 0,19	5,09 $\pm$ 0,06
49	-	-	-	5,33 $\pm$ 0,09
55	-	-	-	5,42 $\pm$ 0,01

Примечание: ¹ – логарифм концентрации бактерий

Таблица 4

Обнаружение *Y. pseudotuberculosis* в морских одноклеточных водорослях (lgKOE $\pm$ m)¹

Вид водоросли	Время наблюдения (сутки)					
	0	1	2	3	4	5
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	4,68 $\pm$ 0,02	4,37 $\pm$ 0,10	4,16 $\pm$ 0,01	3,52 $\pm$ 0,03	1,84 $\pm$ 0,06	-
<i>Gymnodinium kovalevskii</i>	4,68 $\pm$ 0,02	3,48 $\pm$ 0,23	2,31 $\pm$ 0,24	2,85 $\pm$ 1,0	-	-
<i>Pyramimonas spp.</i>	4,68 $\pm$ 0,02	3,37 $\pm$ 0,14	1,20 $\pm$ 0,10	-	-	-
<i>Dunaliella salina</i>	4,68 $\pm$ 0,02	4,06 $\pm$ 0,10	2,05 $\pm$ 0,16	-	-	-
<i>Chaetoceros muelleri</i>	4,68 $\pm$ 0,02	4,05 $\pm$ 0,25	0,43 $\pm$ 0,35	-	-	-
<i>Porphyridium cruentum</i>	4,68 $\pm$ 0,02	4,28 $\pm$ 0,09	3,16 $\pm$ 0,11	-	-	-
<i>Thalassiosira proshkina</i>	4,68 $\pm$ 0,02	4,19 $\pm$ 0,10	1,10 $\pm$ 0,11	-	-	-
<i>Isochysis galbana</i>	4,68 $\pm$ 0,02	3,94 $\pm$ 0,16	-	-	-	-
<i>Chaetoceros socialis forma radialis</i>	4,68 $\pm$ 0,02	4,16 $\pm$ 0,08	-	-	-	-
Число клеток водорослей, n *104	7,5	31,0	55,0	141,0	241,0	594,0

Примечание: ¹ – логарифм концентрации бактерий.

рода *Yersinia* (*Y. pseudotuberculosis*; *Y. enterocolitica*; *Y. frederiksenii*; *Y. kristensenii*, *Y. intermedia*) формировать биопленки в морской и речной воде при низкой положительной температуре (6–8°C) [34, 35] (рис. 5).

Патогенные и потенциально патогенные иерсинии не обнаруживались после их инкубирования *in vitro* с морской диатомовой водорослью *Dunaliella tertiolecta* уже через 2–3 суток. Такая же закономерность наблюдалась и при исследовании жизнеспособности *Y. pseudotuberculosis* в ассоциации с другими видами морских водорослей. При этом рост водорослей в присутствии бактерий не отличался от контроля, и они достигали стационарную фазу к 10–14 суткам, имея нормальное строение. На 5 сутки наблюдения число бактерий резко снизилось, удалось обнаружить лишь единичные микробные клетки, которые имели признаки лизиса и морфологической гетерогенности.

Рис. 5. Биопленка, сформированная *Y. pseudotuberculosis* (штамм 2517) в течение 24 часов в питательном бульоне. Электронная микроскопия, увеличение $\times 7200$ (Фото: Н.Ф. Тимченко, Л.В. Диденко 2015 г.)

Рис. 6. Логарифмические концентрации бактерий *Y. pseudotuberculosis* в тканях голотурий *E. fraudatrix*

Другим важным биотическим фактором, влияющим на выживание иерсиний в морской воде, являются голотурии. При внесении *Y. pseudotuberculosis* в концентрации 10^6 – 10^8 /мл в морскую воду, в которую были внесены голотурии *Eupentacta fraudatrix*, бактерии в тканях гидробионтов (легкие, кишечник и целомическая жидкость) в первые часы и последующие 30 суток наблюдения выявлялись, но их численность имела тенденцию к снижению (рис. 6).

Важным фактом для понимания поведения бактерий рода *Yersinia* в условиях морских экосистем является то, что после гибели голотурий бактерии в течение 30 суток наблюдения выживали в тканях трупов, в то время как в окружающей воде они не обнаруживались. Подсаженные в аквариум здоровые голотурии заражались от трупов, у них появлялись признаки болезни (3 суток), через 5–7 суток они погибали. В тканях и органах вновь инфицированных голотурий в течение всего срока наблюдения (14 суток) обнаруживались бактерии *Y. pseudotuberculosis*, в то время как в морской воде они не выявлялись.

У инфицированных *Y. pseudotuberculosis* голотурий *E. fraudatrix* картина поражения была однотипной независимо от способа заражения. К 3-м суткам после внесения бактерий в воду или целомическую полость (в концентрации 10^4 мк/мл) часть голотурий выбрасывала органы, сжималось в комок, вытягивали амбулакральные ножки. К 4–5 суткам изменения нарастали, голотурии теряли подвижность.

Следовательно, *Y. pseudotuberculosis* могут попадать в организм гидробионтов из морской воды и тканей мертвых морских организмов, инфицированных этим возбудителем, при этом они поддерживают высокий потенциал патогенности.

Дальневосточные трепанги *A. japonicus* также оказались высокочувствительными к поражающему действию *Y. pseudotuberculosis*. В экспериментальных исследованиях, проведенных совместно с Елисейкиной М.Г. (2002, 2010), было установлено, что у *A. japonicus*

заражение *Y. pseudotuberculosis* вызывало потерю подвижности и появление язв в кожно-мышечном мешке и гибель на 4–5 сутки заражения. [11, 33].

Электронно-микроскопические исследования органов трепанга в разные сроки после инфицирования *Y. pseudotuberculosis* позволили установить последовательность реализации адгезивных и инвазивных свойств возбудителя в условиях низкой положительной температуры [33, 34]. Как и при взаимодействии с фагоцитами теплокровных животных [34], иерсинии адсорбировались на поверхности целомацитов, проникали в цитоплазму и целомическую полость. При этом часть фагоцитированных иерсиний была повреждена, однако в течение всего периода наблюдений (25 суток) в амебоцитах присутствовали неповрежденные бактерии (рис. 7) [11, 33, 34].

Заключение

Таким образом, полученные к настоящему времени данные вносят вклад в обоснование путей и условий выживания во внешней среде, а также сохранения вирулентных свойств возбудителей сапронозов (сапрозоонозов), в частности, патогенных видов рода *Yersinia* [33, 34]. Они свидетельствуют о том, что энтеропатогенные виды иерсиний *Y. pseudotuberculosis* и *Y. enterocolitica* способны выживать в морской воде и гидробионтах залива Петра Великого, формировать биопленки. Они реализуют патогенный потенциал с адгезивной, инвазивной и токсической функциями, проникают из окружающей среды в организм иглокожих и морских водорослей, в определенной мере, противостоят клеточным и гуморальным факторам защиты организма, длительно выживают в фагоцитах и тканях животных, нередко вызывают их гибель. Морские гидробионты типа иглокожие реагируют на вторжение *Y. pseudotuberculosis* и их токсинов выраженной реакцией со стороны гуморального и клеточного звеньев иммунной системы.

Рис. 7. Взаимодействие *Y. pseudotuberculosis* с трепангом (*A. japonicus*): А – адгезия к поверхности целомотита; В – проникновение в клетку; С – бактерия в фагосоме; D – бактерии в целомотической полости

Все эти факты свидетельствуют о реальном риске заражения человека этими возбудителями через объекты морских экосистем. Этому способствует повсеместное опреснение морей наземными стоками и атмосферными осадками, что может быть решающим фактором в процессе адаптации иерсиний и формировании популяции, приспособившейся жить в морских системах, например, в некультивируемом состоянии.

Биотические и абиотические факторы морских экосистем оказывают на жизнеспособность иерсиний как положительное, так и отрицательное влияние. В условиях низких положительных температур, когда гены плазмиды вирулентности не экспрессируются, а их продукты, по-видимому, не участвуют во взаимодействии бактерий с гидробионтами, повышается роль хромосомных факторов патогенности иерсиний, выработка которых выражена в этих условиях. Таким образом, патогенные виды *Yersinia* не утрачивают вирулентных свойств в морских экосистемах и продуцируют факторы патогенности – адгезин, инвазин, токсины, они устойчивы к фагоцитозу, используют одноклеточные диатомовые водоросли, а также разные виды и типы животных, длительно размножаются в их клетках и тканях, нередко вызывая их гибель.

Следовательно, *Yersinia* как экологически неоднородная группа прокариот должна привлечь внимание ученых и специалистов разного профиля: эпидемиологов, микробиологов, экологов, зоологов, врачей и производителей-специалистов по морским про-

мыслам. Выявление энтеропатогенных видов *Yersinia* в морских экосистемах может являться показателем для определения микробиологического качества и безопасности морской воды и гидробионтов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследования не имели спонсорской поддержки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрюков Б.Г., Запорожец Т.С., Сомова Л.М., Тимченко Н.Ф. Температурозависимые вариации иммуногенности иерсиний как молекулярная стратегия выживаемости бактерий в патогенезе инфекций. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2015; 5(63): 4–14.
2. Беленева И.А., Жукова Н.В. Бактериальные сообщества некоторых бурых и красных водорослей залива Петра Великого, Японское море. *Микробиология*. 2006; 3(75): 410–9.
3. Бузолева Л.С., Калинина Е.Г., Безвербная И.П., Кривошеева А.М. Микробные сообщества поверхностных прибрежных вод бухты золотой рог в условиях высокого антропогенного загрязнения. *Океанология*. 2008; 6(48): 882–8.
4. Бузолева Л.С. Санитарно-микробиологическая характеристика поверхностных вод пляжей Владивостока. *Гигиена и санитария*. 2008; 4: 3–7.
5. Бузолева Л.С., Ким А.В., Компанец Г.Г., Богатыренко Е.А. Проявление патогенных свойств у морских бактерий под влиянием антропогенного загрязнения. *Экология человека*. 2016; 3: 30–6.
6. Бухарин О.В., Гинцбург А.Л., Романова Ю.М., Эль-Регистан Г.И. *Механизмы выживания бактерий*. М.: Медицина, 2005.
7. Ващенко М.А. Загрязнение залива Петра Великого Японского моря и его экологические последствия. *Биология моря*. 2000; 3(26): 149–59.
8. Галышева Ю.А. Биологические последствия органического загрязнения прибрежных морских экосистем российской части Японского моря. *Известия ТИНРО*. 2009; 158: 209–27.
9. Дегтярева В.А., Бузолева Л.С. Оценка санитарно-микробиологического состояния прибрежных вод Владивостока. *Известия ТИНРО*. 2010; 163: 349–54.
10. Дулепов В.И., Лелюх Н.Н., Лескова О.А. *Анализ и моделирование процессов функционирования экосистем залива Петра Великого*. Владивосток, Дальнаука, 2004.
11. Елисейкина М.Г., Тимченко Н.Ф., Недашкова Е.П. и соавт. Взаимодействие *Yersinia pseudotuberculosis* и её токсинов с компонентами иммунной системы морских беспозвоночных животных. *Эпидемиол. инф. бол.* 2002; 1: 28–32.

12. Журавель Е.В., Христофорова Н.К., Дроздовская О.А., Токарчук Т.Н. Оценка состояния вод залива Восток (залив Петра Великого, Японское море) по гидрохимическим и микробиологическим показателям. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук*. 2012; №1(9): 2325–9.
13. Калитина Е.Г., Бузолева Л.С. Микробиологическая оценка загрязнения органическими веществами поверхностных вод бухты Золотой Рог / Материалы межд. научн.-практ. конф. «Морская экология-2005». Владивосток: МГУ, 2005; 77–81.
14. Касьянов В.Л. Морское биологическое разнообразие: изучение, охрана, ценность для человечества. *Вестник РАН*. 2002; 6(72): 495–504.
15. Ким Н.Ю., Новикова О.Д., Хоменко В.А. и соавт. Влияние pH на структуру и функциональную активность порина и наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis*. Функционально значимые информационные переходы иерсинина. *Биол. мембраны*. 2007; 2(24): 150–8.
16. Кузлева Л.М., Ерошенко Г.А., Видяева Н.А., Кутырев В.В. Бактериальная биопленка и особенности ее образования у возбудителя чумы и других патогенных иерсиний. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2011; 110: 5–11.
17. Кузнецов В.Г., Лаженцева Л.Ю., Елисейкина М.Г. и др. Распространение бактерий рода *Yersinia* в морской воде и гидробионтах. *Журн. микробиол.* 2006; 3: 117–20.
18. Лишавская Т.С., Севастьянов А.В., Чернова А.С., Чаткина Т.В. *Мониторинг загрязнения прибрежных районов залива Петра Великого* // Труды ГУ Дальневосточный региональный научно-исследовательский гидрометеорологический институт. 2010; 1: 97–112.
19. Литвин В.Ю., Пушкарева В.И. Факторы патогенности бактерий: функции в окружающей среде. *Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол.* 1994; 3: 84–7.
20. Лучин В.А., Тихомирова Е.А. Межгодовая изменчивость температуры воды в заливе Петра Великого (Японское море). *Известия ТИНРО*. 2010; 163: 338–48.
21. Майоров И.С., Горшков М.В., Золотова В.И. и соавт. Экосистемный анализ залива Петра Великого и его водосбора для целей рекреационного природопользования. *Проблемы региональной экологии*. 2009; 6: 67–72.
22. Мошарова И.В., Ильинский В.В., Акулова А.Ю. Применение микробиологических показателей для оценки эколого-санитарного состояния прибрежной зоны озера Белого. *Здоровье населения и среда обитания*. 2014; 9(258): 21–3.
23. Мощенко А.В., Шайхлисламова Л.Е. Экологическое состояние восточной части пролива Босфор Восточный (залив Петра Великого Японского моря). *Известия ТИНРО*. 2010; 161: 199–211.
24. Новикова О.Д., Ким Н.Ю., Лукьянов П.А. и соавт. Влияние pH на структуру и функциональную активность порина из наружной мембраны *Yersinia pseudotuberculosis*. Характеристика pH-индуцированных конформационных интермедиатов иерсинина. *Биол. мембраны*. 2007; 24(2): 159–68.
25. Рачков В.И. *Сезонные изменения химико-гидрологических условий верхней зоны шельфа в северной части Японского моря*. Владивосток: ТИНРО, 1989.
26. Севастьянов А.В., Лишавская Т.С., Чаткина Т.В. Гипоксия придонных вод прибрежных районов залива Петра Великого. *Труды ГУ Дальневосточный региональный научно-исследовательский гидрометеорологический институт*. 2012; 1(154): 226–45.
27. Смирнов И.В. Возбудитель иерсиниоза и близкие к нему возбудители. *Клин. микробиол. антимикр. химиотер.* 2004; 1(6): 10–21.
28. *Современное экологическое состояние залива Петра Великого Японского моря*: коллективн. моногр. Под ред. Н.К. Христофоровой. Владивосток: Изд. дом ДВФУ, 2012.
29. Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.Н., Антоненко Ф.Ф. *Псевдотуберкулез*. М.: Медицина, 2001.
30. Сомов Г.П., Бузолева Л.С. Некоторые аспекты экологии возбудителей сапронозов. *Эпидемиол. и инфекцион. болезни*. 2002; 1: 184.
31. Сомова Л.М., Бузолева Л.С., Плехова Н.Г. Морфологические аспекты адаптации возбудителей сапрозоонозов в разных условиях обитания. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2011; 4(31): 20–8.
32. Тимченко Н.Ф., Недашковская Е.П., Долматова Л.С. и соавт. *Токсины Yersinia pseudotuberculosis*. Владивосток: Примполиграфкомбинат, 2004.
33. Тимченко Н.Ф., Елисейкина М.Г., Айзайчер Н.А. Взаимодействие *Yersinia pseudotuberculosis* с морскими одноклеточными водорослями. *Тихоок. медиц. журн.* 2010; 3: 72–5.
34. Терентьева Н.А., Тимченко Н.Ф., Рассказов В.А. Исследование влияния биологически активных веществ на формирование бактериальных биопленок. *Здоровье. Медицинская экология. Наука*. 2014; 3(57): 54–5.
35. Терентьева Н.А., Тимченко Н.Ф., Балабанова Л.А., Рассказов В.А. Характеристика образования, ингибирования и разрушения биопленок *Yersinia pseudotuberculosis*, формирующихся на абиотических поверхностях. *Журн. микробиол. эпидемиол. и иммунобиол.* 2015; 3: 72–8.
36. Abdelraouf A., Elmanama N., Ferwana P. *Yersinia enterocolitica* and *Aeromonas hydrophila* in Clinical, Food and Environmental Samples in Gaza Strip, PNA. *Journal of Al Azhar University-Gaza (Natural Sciences)*. 2011; 13: 69–82.

37. ANZECC/ARMCANZ. *Australian Guidelines for Fresh and Marine Water Quality*. 2000.
38. Barwick R.S., Levy D.A., Craun G.F. et al. Surveillance for waterborne-disease outbreaks-United States, 1997–1998. *Morbidity and mortality weekly report*. 2000; 49: 1–37.
39. Baker P.M., Farmer III J.J. New bacteriophage typing system for *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia kristensenii*, *Yersinia frederiksenii*, and *Yersinia intermedia*: correlation with serotyping, biotyping and antibiotic susceptibility. *Journal of Clinical Microbiology*. 1982; 15: 491–502.
40. Bakholdina S.I., Sanina N.M., Krasikova I.N. et al. The impact of abiotic factors (temperature and glucose) on physicochemical properties of lipids from *Yersinia pseudotuberculosis*. *Biochimie*. 2004; 86: 875–81.
41. Balleste E., Bonjoch X., Belanche L.A. et al. Molecular indicators used in the development of predictive models for microbial source tracking. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76: 1789–95.
42. *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Editors: Dennis A. Hansell, C.A. Carlson. Amsterdam: Elsevier, 2015.
43. Bogosian G., Morris P.J.I., O'Neil G.P. A mix culture recovery method indicates that enteric bacteria do not enter the viable but nonculturable state. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998; 64: 1736–42.
44. Briancesco R. Indicatori microbiologici e valutazione della qualità delle acque superficiali. *Ann Ist Super Sanità*. 2005; 41(3): 353–8 (in Italy).
45. Carniel E. Plague Today. *Med Hist Suppl*. 2008; (27): 115–22.
46. Costa L., Faustino M.A.F., Graca M., Neves P.M.S., Cunha A., Almedia A. Photodynamic Inactivation of Mammalian Viruses and Bacteriophages. *Viruses*. 2012; 4(7): 1034–74.
47. Davey M.E., O'toole G.A. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000; 64: 4847–67.
48. Dick L.K., Stelzer E.A., Bertke E.E., et al. Relative decay of Bacteroidales microbial source tracking markers and cultivated *Escherichia coli* in freshwater microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76: 3255–62.
49. *European Spas Association Quality Criteria of the European Spas Association (ESPA)*. General Assembly. Portugal, San Pedro do Sul, 2006.
50. *Ecosystems Barents Sea*. Editor: E. Sukshaug. Stockholm. 2009.
51. Falcao D.P., Correa E.F., Falkao G.P. *Yersinia* spp. in the environment: epidemiology and virulence characteristics. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003; 529: 341–3.
52. Faruque S.M., Bin Naser I., Fujihara K., Diraphat P., Chowdhury N., Kamruzzaman M., Qadri F., Yamasaki S., Ghosh A.N., Mekalanos J.J. Genomic sequence and receptor for the *Vibrio cholerae* phage KSF-1phi: evolutionary divergence among filamentous vibriophages mediating lateral gene transfer. *Journal of Bacteriology*. 2005; 187: 4095–103.
53. Fleisher J.M., Salmon R.L., Jones F., Wyer M.D., Godfree A.F. Marine waters contaminated with domestic sewage: nonenteric illnesses associated with bather exposure in the United Kingdom. *American Journal of Public Health*. 1996; 86(9): 1228–34.
54. Fleisher J.M., Kay D., Wyer M., Merrett H. The enterovirus test in the assessment of recreational water-associated gastroenteritis. *Water Research*. 1996; 30: 2341–6.
55. Garcia E., Elliott J.M., Ramanculov E., Chain P.S., Chu M.C., Molineux I.J. The genome sequence of *Yersinia pestis* bacteriophage ϕ A1122 reveals an intimate history with the coliphage T3 and T7 genomes. *Journal of Bacteriology*. 2003; 185: 5248–62.
56. Green H.C., Shanks O.C., Sivaganesan M., Haugland R.A., Field K.G. Differential decay of human fecal *Bacteroides* in marine and freshwater. *Environ. Microbiol.* 2011; 13: 3235–49.
57. Han Y., Zhou D., Pang X., Zhang L., Song Y., Tong Z., Bao J., Dai E., Wang J., Guo Z., Zhai J., Du Z., Wang X., Wang J., Huang P., Yang R. Comparative transcriptome analysis of *Yersinia pestis* in response to hyperosmotic and high-salinity stress. *Res Microbiol.* 2005; 156(3): 403–15.
58. Hansell D.A. Recalcitrant dissolved organic carbon fractions. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 2013; 5: 421–45.
59. Hara-Kudo Y., Segawa Y., Kimura K. Sanitation of seawater effluent from seaweed processing plants using a photo-catalytic TiO₂ oxidation. *Chemosphere*. 2006; 62(1): 149–54.
60. Herbst K., Bujara M., Heroven A.K., Opitz W., Weichert M., Zimmermann A., Dersch P. Intrinsic thermal sensing controls proteolysis of *Yersinia* virulence regulator RovA. *PLoS Pathog.* 2009; 5(5): e1000435.
61. Jamshidi S., Bakar N.B.A. Variability of dissolved oxygen and active reaction in deep water of the southern Caspian Sea, near the Iranian coast. *Pol J Environ Stud.* 2011; 5(20): 1167–80.
62. Kay D., Fleisher J.M., Salmon R.L., Wyer M.D., Godfree A.F., Zelenauch-Jacquotte Z., Shore R. Predicting likelihood of gastroenteritis from sea bathing; results from randomized exposure. *Lancet*. 1994; 344(8927): 905–9.
63. Kiljunen S., Vilen H., Savilahti H., Skurnik M. Nonessential genes of the phage ϕ YeO3-12 include genes involved in adaptation to growth on *Yersinia enterocolitica* serotype O:3. *J. Bacteriol.* 2005; 187: 1405–14.
64. Kiljunen S., Hakala K., Pinta E., Huttunen S., Pluta P., Gador A., Lönnberg H., Skurnik, M. *Yersiniophage* ϕ R1-37 is a tailed bacteriophage having a 270 kb DNA

genome with thymidine replaced by deoxyuridine. *Microbiology*. 2005; 151: 4093–102.

65. Kiljunen S., Bengoechea J.A., Holst O., Skurnik M. Identification of LPS core of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* as the receptor for bacteriophage ϕ A1122. Manuscript. 2005.

66. Kim T., Young B., Young G. Effect of flagellar mutations on *Yersinia enterocolitica* biofilm formation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(17): 5466–74.

67. Khemakhem W., Ammar E., Bakhrouf A. Effect of Environmental Conditions on Hydrophobicity of Marine Bacteria Adapted to Textile Effluent Treatment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 2011; 21(8): 1623–31.

68. Kramer M.H., Sorhage F.E., Goldstein S.T., Dalley E., Wahlquist S.P., Herwaldt B.L. First reported outbreak in the United States associated with a recreational lake. *Clinical infectious disease*. 1998; 26: 27–33.

69. Korajkic A., McMinn B.R., Shanks O.C. et al. Biotic Interactions and Sunlight Affect Persistence of Fecal Indicator Bacteria and Microbial Source Tracking Genetic Markers in the Upper Mississippi River. *Appl Environ Microbiol.* 2014; 80(13): 3952–61.

70. Leon-Velarde C.G., Kropinski A.M., Chen Sh. et al. Complete genome sequence of bacteriophage ν B_YenP_AP5 which infects *Yersinia enterocolitica* of serotype O:3. *Virol J.* 2014; 11: 188.

71. Li L., Mendis N., Trigui H., Oliver D.D., Faucher S.P. The importance of viable but non-culturable state in bacterial human pathogens. *Front Microbiol.* 2014; 5: 258.

72. Liang J., Li X., Zha T. et al. DTDP-rhamnosyl transferase RfbF, is a newfound receptor-related regulatory protein for phage ϕ Ye-F10 specific for *Yersinia enterocolitica* serotype O:3. *Scientific Reports*. 2016; 6: 22905.

73. Merhej V., Royer-Carenzi M., Pontarotti P., Raoult D. Massive comparative genomic analysis reveals convergent evolution of specialized bacteria. *Biology Direct*. 2009; 4: 13.

74. Mpongwana N., Ntwampe S.K., Mekuto L., Akinpelu E.A., Dyantyi S., Mpentshu Y. Isolation of high-salinity-tolerant bacterial strains, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Yersinia spp.*, for nitrification and aerobic denitrification under cyanogenic conditions. *Water Sci Technol.* 2016; 73(9): 2168–75.

75. Muniesa M., Imamovic L., Jofre J. Bacteriophages and genetic mobilization in sewage and faecally polluted environments. *Microb Biotechnol.* 2011; 4(6): 725–34.

76. Nășcuțiu A.M. Viable non-culturable bacteria. *Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol.* 2010; 55(1): 11–8 (in Romanian).

77. Oliver J.D. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 2010; 34(4): 415–25.

78. *Oceanography and Marine Biology*. Editors: Gibson R.N., Atkinson R.J.A., Gordon J.D.M. London-New York-Washington: CRC Press, 2004.

79. *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*. Edited by S. Belkin and R. Colwell, Springer, New York, 2005.

80. Okabe S., Okayama N., Savichtcheva O., Ito T. Quantification of host-specific *Bacteroides-Prevotella* 16S rRNA genetic markers for assessment of fecal pollution in freshwater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007; 74: 890–901.

81. Özçakir O. Viable but non-culturable form of bacteria. *Mikrobiyol Bul.* 2007; 41(3): 477–84 (in Turkish).

82. Padan E., Bibi E., Ito M., Krulwich T.A. Alkaline pH Homeostasis in Bacteria: New Insights. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1717(2): 67–88.

83. Papa R., Selan L., Parrilli E., Tilotta M., Sannino F., Feller G., Tutino M.L., Artini M. Anti-Biofilm activities from marine cold adapted bacteria against *Staphylococci* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol.* 2015; 6: 1333.

84. Pinta E. Characterization of the six glycosyltransferases involved in the biosynthesis of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 lipopolysaccharide outer core. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 28333–42.

85. Pisano F., Heine W., Rosenheinrich M., Schweer J., Nuss A.M., Dersch P. Influence of PhoP and Intra-Species Variations on Virulence of *Yersinia pseudotuberculosis* during the Natural Oral Infection Route. *PLoS One*. 2014; 9(7): e103541.

86. Pokrovsky O.S., Shirokova L.S. Diurnal variations of dissolved and colloidal organic carbon and trace metals in a boreal lake during summer bloom. *Water Res.* 2013; 47(2): 922–32.

87. Pomeroy L.R., Williams P.J.I., Azam F., Hobbie J.E. Microbial loop. *Oceanography*. 2007; 20(2): 28–33.

88. Popovic N.T., Skukan A.B., Dzidara P., Coz-Rakovac R., Strunjak-Perovic I., Kozacinski L., Jadan M., Brlek-Gorski D. Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Veterinarni Medicina*. 2010; 5(55): 233–41.

89. Prüss A. A review of epidemiological studies from exposure to recreational water. *International Journal of Epidemiology*. 1998; 27: 1–9.

90. Raetz C.R.H., Reynolds C.M., Trent M.S., Bishop R.E. Lipid a modification systems in gram-negative bacteria. *Annu Rev Biochem.* 2007; 76: 295–329.

91. Ramamurthy T., Ghosh A., Pazhani G.P., Shinoda S. Current Perspectives on Viable but Non-Culturable (VBNC) Pathogenic Bacteria. *Front Public Health*. 2014; 2: 103.

92. Ravin N.V. N15: the linear phage-plasmid. *Plasmid*. 2011; 65(2): 102–9.

93. Rontani J.F., Rambeloarisoa E., Bertrand J.C., Giusti G. Favourable interaction between

photooxidation and bacterial degradation of anthracene in sea water Author links open the overlay panel. Numbers correspond to the affiliation list which can be exposed by using the show more link. *Chemosphere*. 1985; 14(11–12): 1909–12.

94. Rozen Y., Belkin S. Survival of enteric bacteria in seawater. *FEMS Microbiology Reviews*. 2001; 25: 513–29.

95. Sinton L.W., Hall C.H., Lynch P.A., Davies-Colley R.J. Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters. *Appl Environ Microbiol*. 2002; 68: 1122–31.

96. Sinton L.W. *Biotic and Abiotic Effects in Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*. Edited by S. Belkin and R. Colwell, Springer, New York, 2005.

97. Smith J.J., Howington J.P., McFeters G.A. Survival, physiological response and recovery of enteric bacteria exposed to a polar marine environment. *Appl Environ Microbiol*. 1994; 60(8): 2977–84.

98. Skurnik M. Lack of correlation between the presence of plasmids and fimbriae in *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *J. Appl. Bacteriol*. 1984; 56: 355–63.

99. Skurnik M, Venho R, Toivanen P, Al-Hendy A. A novel locus of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 involved in lipopolysaccharide outer core biosynthesis. *Mol. Microbiol*. 1995; 17: 575–94.

100. Skurnik M, Venho R, Bengoechea JA, Moriyón I. The lipopolysaccharide outer core of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 is required for virulence and plays a role in outer membrane integrity. *Mol. Microbiol*. 1999; 31: 1443–62.

101. Skurnik M, Strauch E. Phage therapy: facts and fiction. *Int. J. Med. Microbiol*. 2006; 296: 5–14.

102. Skurnik M, Pajunen M, Kiljunen S. Biotechnological challenges of phage therapy. *Biotechnol. Lett*. 2007; 29: 995–1003.

103. Skurnik M., Hyytiäinen H.J., Happonen L.J. et al. Characterization of the Genome, Proteome, and Structure of *Yersiniophage* ϕ R1-37. *J Virol*. 2012; 86(23): 12625–42.

104. Stone R. Bacteriophage therapy. Stalin's forgotten cure. *Science*. 2002; 298: 728–31.

105. Suttle C.A. Marine viruses – major players in the global ecosystem. *Nature Reviews. Microbiology*. 2007; 5(10): 801–12.

106. Tyrer P., Foxwell A.R., Cripps A.W., Apicella M.A., Kyd J.M. Microbial Pattern Recognition Receptors Mediate M-Cell Uptake of a Gram-Negative *Bacterium*. *Infect Immun*. 2006; 74(1): 625–31.

107. Vuong C., Kocianova S., Voyich J. et al. A crucial role for exopolysaccharide modification in bacterial biofilm formation, immune evasion, and virulence. *J. Biol. Chem*. 2004; 279: 54881–6.

108. Walters S.P., Field K.G. Survival and persistence of human and ruminant-specific faecal Bacteroidales in freshwater microcosms. *Environ. Microbiol*. 2009; 11: 1410–21.

109. Wang Y., Ding L., Hu Y. et al. The fhDC gene affects motility and biofilm formation in *Yersinia pseudotuberculosis*. *Sci. China*. 2007; 50(6): 814–21.

110. Whitlam G.C., Codd G.A. Damaging effects of light on microorganisms. *Soc Gen Microbiol (Special Publication)*. 1986; 17: 129–69.

111. WHO. *Guidelines for safe recreational-water environments*. Volume 1: Coastal and fresh waters. EPA Guidance Manual – Turbidity Provisions, 2001.

REFERENCES

1. Andryukov B.G., Zaporozhets T.S., Somova L.M., Timchenko N.F. Temperature-dependent variations in the molecular immunogenicity *Yersinia* bacteria survival strategy in the pathogenesis of infections. *Health. Medical ecology. Science* (in Russia). 2015; 5 (63): 4–14.
2. Beleneva I.A., Zhukova N.V. Bacterial community of some brown and red algae Peter the Great Bay, Sea of Japan. *Microbiology*. 2006; 3(75): 410–9.
3. Buzoleva L.S., Kalitina E.G., Bezverbnaya I.P., Krivosheeva A.M. Microbial community superficial coastal waters of the Golden Horn Bay in the conditions of high anthropogenic pollution. *Oceanology*. 2008; 6 (48): 882–8.
4. Buzoleva LS Sanitarnaya mikrobiologicheskaya and characterization of surface waters beaches Vladivostok. *Hygiene and sanitation*. 2008; 4: 3-7.5. Buzoleva LS, Kim AV, Kompanets GG Bogatyrenko E. The manifestation of the pathogenic properties of the marine bacteria under the influence of anthropogenic pollution. *Human ecology*. 2016; 3: 30-6.
5. Bukharin O.V., Ginzburg A.L., Romanov Yu., El-Registan G.I. *Mechanisms of bacterial survival*. M.: Medicine, 2005.
6. Vaschenko MA Pollution of Peter the Great Bay, Sea of Japan, and its environmental consequences. *Marine Biology*. 2000; 3 (26): 149–59.
7. Galysheva YA The biological effects of organic pollution of coastal marine ecosystems of the Russian part of the Sea of Japan. *News TINRO*. 2009; 158: 209–27.
8. Degtyareva V.A., Buzolëva L.S. Evaluation of sanitary and microbiological status of the coastal waters of Vladivostok. *News TINRO*. 2010; 163: 349–54.
9. Dulepov V.I., Lelyukh N.N., Leskov O.A. *Analysis and modeling of ecosystem functioning Gulf of Peter the Great*. Vladivostok, Dal'nauka 2004.
10. Eliseikina M.G., Timchenko N.F., Nedashkovskaya E.P. et al. Interaction of *Yersinia pseudotuberculosis* and its toxins from the components of the immune system of marine invertebrates. *Epidemiology. inf. bol*. 2002; 1: 28–32.

11. Zhuravela E.V., Hristoforova N.K., Drozdovskaya O.A., Tokarczuk T.N. Water Assessment Vostok Bay (Peter the Great Bay, Sea of Japan) on the hydrochemical and microbiological parameters. *Proceedings of the Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences*. 2012; №1(9): 2325–9.
12. Kalitina E.G., Buzoleva L.S. *Microbiological evaluation of organic pollution of surface waters of the Golden Horn Bay / materials between. nauchn.-pract. Conf. «Marine Ecology 2005»*. Vladivostok State University, 2005; 77–81.
13. Kasyanov V.L. Marine biodiversity: the study, protection, value for humanity. *Journal of Academy of Sciences*. 2002; 6 (72): 495–504.
14. Kim N., Novikova O.D., Khomenko V.A. et al. Effect of pH on the structure and functional activity of outer membrane porin and *Yersinia pseudotuberculosis*. Functionally relevant information yersinin transitions. *Biol membrane*. 2007; 2 (24): 150–8.
15. Kuzleva L.M., Eroshenko G.A., Vidyaev N.A., Kuttyrev V.V. Bacterial biofilm and features of its formation in the causative agent of plague and other pathogenic *Yersinia*. *Plague*. in 2011; 110: 5–11.
16. Kuznetsov V.G., Lazhentseva L.Y., Eliseikina M.G. et al. Distribution of bacteria of the genus *Yersinia* in sea water and aquatic organisms. *Zh. microbiology*. 2006; 3: 117–20.
17. Lishavskaya T.S., Sevastyanov A.V., Chernov A.S., Chatkina T.V. Gulf coastal pollution monitoring // *Peter the Great Works of SI Far Eastern Regional Hydrometeorological Research Institute*. 2010; 1: 97–112.
18. Litvin V.J., Pushkareva V.I. Factors of pathogenicity of bacteria: function in the environment. *Zh. microbiology. epidemiology. and immunobiol.* 1994; 3: 84–7.
19. Lucin V.A., Tikhomirova E.A. The interannual variability of water temperature in the Peter the Great Bay (Sea of Japan). *News TINRO*. 2010; 163: 338–48.
20. Mayorov I.S., Gorshkov M.V., Zolotov V.I. et al. The ecosystem of the Gulf of Peter the Great and the analysis of its catchment area for recreational purposes of wildlife. *Problems of regional ecology*. 2009; 6: 67–72.
21. Mosharova I.V., Ilyinsky V.V., Akulov Yu. The use of microbiological criteria for the assessment of environmental and sanitary conditions of the coastal area of the White Lake. *Public health and environment*. 2014; 9 (258): 21–3.
22. Moschenko A.V., Shayhlislamova L.E. The ecological status of the eastern part of the Bosphorus East (Peter the Great Bay, Sea of Japan). *News TINRO*. 2010; 161: 199–211.
23. Novikova O.D., Kim N.Y., Lukyanov P.A. et al. Effect of pH on the structure and functional activity of outer membrane porin from *Yersinia pseudotuberculosis*. Characteristic pH-induced conformational intermediates yersinin. *Biol membrane*. 2007; 24 (2): 159–68.
24. Rachkov V.I. *Seasonal changes in chemical and hydrological conditions of the upper shelf zone in the northern part of the Sea of Japan*. Vladivostok: TINRO 1989.
25. Sevastyanov A.V., Lishavskaya T.S., Chatkina T.V. Hypoxia bottom waters of coastal areas of the Gulf of Peter the Great. *GU Proceedings Far Eastern Regional Hydrometeorological Research Institute*. 2012; 1 (154): 226–45.
26. Smirnov I.V. The causative agent of yersiniosis and agents of those close to him. *Wedge. microbiology. antimikr. himioter.* 2004; 1 (6): 10–21.
27. *Modern ecological condition of Peter the Great Bay, Sea of Japan: collective. monograph*. Ed. N.K. Khristoforova. Vladivostok: Publishing house. House FEFU 2012.
28. Somov G.P., Pokrovsky V.I., Besednova N.N., Antonenko F.F. *Pseudotuberculosis*. M.: Medicine, 2001.
29. Somov G.P., Buzoleva L.S. Some aspects of the ecology of pathogens sapronoses. *Epidemiology. and infectious. disease*. 2002; 1: 184.
30. Somova L.M., Buzoleva L.S., Plekhova N.G. Morphological aspects of adaptation agents saproozonozov in different habitat conditions. *Siberian Scientific Medical Journal*. 2011; 4 (31): 20–8.
31. Timchenko N.F., Nedashkovskaya E.P., Dolmatova L.S. et al. *Toxins Yersiniapseudotuberculosis*. Vladivostok: Primpoligrafkombinat 2004.
32. Timchenko N.F., Eliseikina M.G., Aizdaicher N.A. Interaction of *Yersinia pseudotuberculosis* c marine unicellular algae. *Tihook. medits. Zh.* 2010; 3: 72–5.
33. Terentieva N.A., Timchenko N.F., Rasskazov V.A. Investigation of the influence of biologically active substances on the formation of bacterial biofilms. *Health. Medical ecology. Science (in Russia)*. 2014; 3 (57): 54–5.
34. Terentiev NA, Timchenko, NF, Balabanov LA, VA Tales Characteristics of Education, inhibiting biofilm formation and destruction of *Yersinia pseudotuberculosis*, formed on abiotic surfaces. *Zh. microbiology. epidemiology. and immunobiol.* 2015; 3: 72–8.
35. Abdelraouf A. Elmanama N., Ferwana P. *Yersinia enterocolitica* and *Aeromonas hydrophila* in Clinical, Food and Environmental Samples in Gaza Strip, PNA. *Journal of Al Azhar University-Gaza (Natural Sciences)*. 2011; 13: 69–82.
36. ANZECC/ARMCANZ. *Australian Guidelines for Fresh and Marine Water Quality*. 2000.
37. Barwick R.S., Levy D.A., Craun G.F. et al. Surveillance for waterborne-disease outbreaks-United States, 1997–1998. *Morbidity and mortality weekly report*. 2000; 49: 1–37.

38. Baker P.M., Farmer III J.J. New bacteriophage typing system for *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia kristensenii*, *Yersinia frederiksenii*, and *Yersinia intermedia*: correlation with serotyping, biotyping and antibiotic susceptibility. *Journal of Clinical Microbiology*. 1982; 15: 491–502.
39. Bakholdina S.I., Sanina N.M., Krasikova I.N. et al. The impact of abiotic factors (temperature and glucose) on physicochemical properties of lipids from *Yersinia pseudotuberculosis*. *Biochimie*. 2004; 86: 875–81.
40. Balleste E., Bonjoch X., Belanche L.A. et al. Molecular indicators used in the development of predictive models for microbial source tracking. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76: 1789–95.
41. *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Editors: Dennis A. Hansell, C.A. Carlson. Amsterdam: Elsevier, 2015.
42. Bogosian G., Morris P.J.I., O'Neil G.P. A mix culture recovery method indicates that enteric bacteria do not enter the viable but nonculturable state. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998; 64: 1736–42.
43. Briancesco R. Indicatori microbiologici e valutazione della qualità delle acque superficiali. *Ann Ist Super Sanità*. 2005; 41(3): 353–8 (in Italy).
44. Carniel E. Plague Today. *Med Hist Suppl*. 2008; (27): 115–22.
45. Costa L., Faustino M.A.F., Graca M., Neves P.M.S., Cunha A., Almedia A. Photodynamic Inactivation of Mammalian Viruses and Bacteriophages. *Viruses*. 2012; 4(7): 1034–74.
46. Davey M.E., O'toole G.A. Microbial Biofilms: from Ecology to Molecular Genetics. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2000; 64: 4847–67.
47. Dick L.K., Stelzer E.A., Bertke E.E., et al. Relative decay of Bacteroidales microbial source tracking markers and cultivated *Escherichia coli* in freshwater microcosms. *Appl. Environ. Microbiol.* 2010; 76: 3255–62.
48. *European Spas Association Quality Criteria of the European Spas Association (ESPA)*. General Assembly. Portugal, San Pedro do Sul, 2006.
49. *Ecosystems Barents Sea*. Editor: E. Sukshaug. Stockholm. 2009.
50. Falcao D.P., Correa E.F., Falkao G.P. *Yersinia spp.* in the environment: epidemiology and virulence characteristics. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003; 529: 341–3.
51. Faruque S.M., Bin Naser I., Fujihara K., Diraphat P., Chowdhury N., Kamruzzaman M., Qadri F., Yamasaki S., Ghosh A.N., Mekalanos J.J. Genomic sequence and receptor for the *Vibrio cholerae* phage KSF-1phi: evolutionary divergence among filamentous vibriophages mediating lateral gene transfer. *Journal of Bacteriology*. 2005; 187: 4095–103.
52. Fleisher J.M., Salmon R.L., Jones F., Wyer M.D., Godfree A.F. Marine waters contaminated with domestic sewage: nonenteric illnesses associated with bather exposure in the United Kingdom. *American Journal of Public Health*. 1996; 86(9): 1228–34.
53. Fleisher J.M., Kay D., Wyer M., Merrett H. The enterovirus test in the assessment of recreational water-associated gastroenteritis. *Water Research*. 1996; 30: 2341–6.
54. Garcia E., Elliott J.M., Ramanculov E., Chain P.S., Chu M.C., Molineux I.J. The genome sequence of *Yersinia pestis* bacteriophage ϕ A1122 reveals an intimate history with the coliphage T3 and T7 genomes. *Journal of Bacteriology*. 2003; 185: 5248–62.
55. Green H.C., Shanks O.C., Sivaganesan M., Haugland R.A., Field K.G. Differential decay of human fecal *Bacteroides* in marine and freshwater. *Environ. Microbiol.* 2011; 13: 3235–49.
56. Han Y., Zhou D., Pang X., Zhang L., Song Y., Tong Z., Bao J., Dai E., Wang J., Guo Z., Zhai J., Du Z., Wang X., Wang J., Huang P., Yang R. Comparative transcriptome analysis of *Yersinia pestis* in response to hyperosmotic and high-salinity stress. *Res Microbiol.* 2005; 156(3): 403–15.
57. Hansell D.A. Recalcitrant dissolved organic carbon fractions. *Ann. Rev. Mar. Sci.* 2013; 5: 421–45.
58. Hara-Kudo Y., Segawa Y., Kimura K. Sanitation of seawater effluent from seaweed processing plants using a photo-catalytic TiO₂ oxidation. *Chemosphere*. 2006; 62(1): 149–54.
59. Herbst K., Bujara M., Heroven A.K., Opitz W., Weichert M., Zimmermann A., Dersch P. Intrinsic thermal sensing controls proteolysis of *Yersinia* virulence regulator RovA. *PLoS Pathog.* 2009; 5(5): e1000435.
60. Jamshidi S., Bakar N.B.A. Variability of dissolved oxygen and active reaction in deep water of the southern Caspian Sea, near the Iranian coast. *Pol J Environ Stud.* 2011; 5(20): 1167–80.
61. Kay D., Fleisher J.M., Salmon R.L., Wyer M.D., Godfree A.F., Zelenauch-Jacquotte Z., Shore R. Predicting likelihood of gastroenteritis from sea bathing; results from randomized exposure. *Lancet*. 1994; 344(8927): 905–9.
62. Kiljunen S., Vilen H., Savilahti H., Skurnik M. Nonessential genes of the phage ϕ YeO3-12 include genes involved in adaptation to growth on *Yersinia enterocolitica* serotype O:3. *J. Bacteriol.* 2005; 187: 1405–14.
63. Kiljunen S., Hakala K., Pinta E., Huttunen S., Pluta P., Gador A., Lönnberg H., Skurnik M. *Yersiniophage* ϕ R1-37 is a tailed bacteriophage having a 270 kb DNA genome with thymidine replaced by deoxyuridine. *Microbiology*. 2005; 151: 4093–102.
64. Kiljunen S., Bengoechea J.A., Holst O., Skurnik M. Identification of LPS core of *Yersinia pestis* and *Yersinia pseudotuberculosis* as the receptor for bacteriophage ϕ A1122. Manuscript. 2005.

65. Kim T., Young B., Young G. Effect of flagellar mutations on *Yersinia enterocolitica* biofilm formation. *Appl. Environ. Microbiol.* 2008; 74(17): 5466–74.
66. Khemakhem W., Ammar E., Bakhrouf A. Effect of Environmental Conditions on Hydrophobicity of Marine Bacteria Adapted to Textile Effluent Treatment. *World Journal of Microbiology and Biotechnology.* 2011; 21(8): 1623–31.
67. Kramer M.H., Sorhage F.E., Goldstein S.T., Dalley E., Wahlquist S.P., Herwaldt B.L. First reported outbreak in the United States associated with a recreational lake. *Clinical infectious disease.* 1998; 26: 27–33.
68. Korajkic A., McMinn B.R., Shanks O.C. et al. Biotic Interactions and Sunlight Affect Persistence of Fecal Indicator Bacteria and Microbial Source Tracking Genetic Markers in the Upper Mississippi River. *Appl Environ Microbiol.* 2014; 80(13): 3952–61.
69. Leon-Velarde C.G., Kropinski A.M., Chen Sh. et al. Complete genome sequence of bacteriophage vB_YenP_AP5 which infects *Yersinia enterocolitica* of serotype O:3. *Virol J.* 2014; 11: 188.
70. Li L., Mendis N., Trigui H., Oliver D.D., Faucher S.P. The importance of viable but non-culturable state in bacterial human pathogens. *Front Microbiol.* 2014; 5: 258.
71. Liang J., Li X., Zha T. et al. DTDP-rhamnosyl transferase RfbF, is a newfound receptor-related regulatory protein for phage phiYe-F10 specific for *Yersinia enterocolitica* serotype O:3. *Scientific Reports.* 2016; 6: 22905.
72. Merhej V., Royer-Carenzi M., Pontarotti P., Raoult D. Massive comparative genomic analysis reveals convergent evolution of specialized bacteria. *Biology Direct.* 2009; 4: 13.
73. Mpongwana N., Ntwampe S.K., Mekuto L., Akinpelu E.A., Dyantyi S., Mpentshu Y. Isolation of high-salinity-tolerant bacterial strains, *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Yersinia spp.*, for nitrification and aerobic denitrification under cyanogenic conditions. *Water Sci Technol.* 2016; 73(9): 2168–75.
74. Muniesa M., Imamovic L., Jofre J. Bacteriophages and genetic mobilization in sewage and faecally polluted environments. *Microb Biotechnol.* 2011; 4(6): 725–34.
75. Nășcuțiu A.M. Viable non-culturable bacteria. *Bacteriol Virusol Parazitol Epidemiol.* 2010; 55(1): 11–8 (in Romanian).
76. Oliver J.D. Recent findings on the viable but nonculturable state in pathogenic bacteria. *FEMS Microbiol Rev.* 2010; 34(4): 415–25.
77. *Oceanography and Marine Biology.* Editors: Gibson R.N., Atkinson R.J.A., Gordon J.D.M. London-New York-Washington: CRC Press, 2004.
78. *Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment.* Edited by S. Belkin and R. Colwell, Springer, New York, 2005.
79. Okabe S., Okayama N., Savichtcheva O., Ito T. Quantification of host-specific *Bacteroides-Prevotella* 16S rRNA genetic markers for assessment of fecal pollution in freshwater. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2007; 74: 890–901.
80. Özçakir O. Viable but non-culturable form of bacteria. *Mikrobiyol Bul.* 2007; 41(3): 477–84 (in Turkish).
81. Padan E., Bibi E., Ito M., Krulwich T.A. Alkaline pH Homeostasis in Bacteria: New Insights. *Biochim Biophys Acta.* 2005; 1717(2): 67–88.
82. Papa R., Selan L., Parrilli E., Tilotta M., Sannino F., Feller G., Tutino M.L., Artini M. Anti-Biofilm activities from marine cold adapted bacteria against *Staphylococci* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol.* 2015; 6: 1333.
83. Pinta E. Characterization of the six glycosyltransferases involved in the biosynthesis of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 lipopolysaccharide outer core. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 28333–42.
84. Pisano F., Heine W., Rosenheinrich M., Schweer J., Nuss A.M., Dersch P. Influence of PhoP and Intra-Species Variations on Virulence of *Yersinia pseudotuberculosis* during the Natural Oral Infection Route. *PLoS One.* 2014; 9(7): e103541.
85. Pokrovsky O.S., Shirokova L.S. Diurnal variations of dissolved and colloidal organic carbon and trace metals in a boreal lake during summer bloom. *Water Res.* 2013; 47(2): 922–32.
86. Pomeroy L.R., Williams P.J.I., Azam F., Hobbie J.E. Microbial loop. *Oceanography.* 2007; 20(2): 28–33.
87. Popovic N.T., Skukan A.B., Dzidara P., Coz-Rakovac R., Strunjak-Perovic I., Kozacinski L., Jadan M., Brlek-Gorski D. Microbiological quality of marketed fresh and frozen seafood caught off the Adriatic coast of Croatia. *Veterinarni Medicina.* 2010; 5(55): 233–41.
88. Prüss A. A review of epidemiological studies from exposure to recreational water. *International Journal of Epidemiology.* 1998; 27: 1–9.
89. Raetz C.R.H., Reynolds C.M., Trent M.S., Bishop R.E. Lipid a modification systems in gram-negative bacteria. *Annu Rev Biochem.* 2007; 76: 295–329.
90. Ramamurthy T., Ghosh A., Pazhani G.P., Shinoda S. Current Perspectives on Viable but Non-Culturable (VBNC) Pathogenic Bacteria. *Front Public Health.* 2014; 2: 103.
91. Ravin N.V. N15: the linear phage-plasmid. *Plasmid.* 2011; 65(2): 102–9.
92. Rontani J.F., Rambeloarisoa E., Bertrand J.C., Giusti G. Favourable interaction between photooxidation and bacterial degradation of anthracene in sea water Author links open the overlay panel. Numbers correspond to the affiliation list which can be exposed by using the show more link. *Chemosphere.* 1985; 14(11–12): 1909–12.
93. Rozen Y., Belkin S. Survival of enteric bacteria in seawater. *FEMS Microbiology Reviews.* 2001; 25: 513–29.

94. Sinton L.W., Hall C.H., Lynch P.A., Davies-Colley R.J. Sunlight inactivation of fecal indicator bacteria and bacteriophages from waste stabilization pond effluent in fresh and saline waters. *Appl Environ Microbiol.* 2002; 68: 1122–31.
95. Sinton L.W. *Biotic and Abiotic Effects in Oceans and Health: Pathogens in the Marine Environment*. Edited by S. Belkin and R. Colwell, Springer, New York, 2005.
96. Smith J.J., Howington J.P., McFeters G.A. Survival, physiological response and recovery of enteric bacteria exposed to a polar marine environment. *Appl Environ Microbiol.* 1994; 60(8): 2977–84.
97. Skurnik M. Lack of correlation between the presence of plasmids and fimbriae in *Yersinia enterocolitica* and *Yersinia pseudotuberculosis*. *J. Appl. Bacteriol.* 1984; 56: 355–63.
98. Skurnik M, Venho R, Toivanen P, Al-Hendy A. A novel locus of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 involved in lipopolysaccharide outer core biosynthesis. *Mol. Microbiol.* 1995; 17: 575–94.
99. Skurnik M, Venho R, Bengoechea JA, Moriyón I. The lipopolysaccharide outer core of *Yersinia enterocolitica* serotype O:3 is required for virulence and plays a role in outer membrane integrity. *Mol. Microbiol.* 1999; 31: 1443–62.
100. Skurnik M, Strauch E. Phage therapy: facts and fiction. *Int. J. Med. Microbiol.* 2006; 296: 5–14.
101. Skurnik M, Pajunen M, Kiljunen S. Biotechnological challenges of phage therapy. *Biotechnol. Lett.* 2007; 29: 995–1003.
102. Skurnik M., Hyytiäinen H.J., Happonen L.J. et al. Characterization of the Genome, Proteome, and Structure of Yersiniophage ϕ R1-37. *J Virol.* 2012; 86(23): 12625–42.
103. Stone R. Bacteriophage therapy. Stalin's forgotten cure. *Science.* 2002; 298: 728–31.
104. Suttle C.A. Marine viruses – major players in the global ecosystem. *Nature Reviews. Microbiology.* 2007; 5(10): 801–12.
105. Tyrer P., Foxwell A.R., Cripps A.W., Apicella M.A., Kyd J.M. Microbial Pattern Recognition Receptors Mediate M-Cell Uptake of a Gram-Negative Bacterium. *Infect Immun.* 2006; 74(1): 625–31.
106. Vuong C., Kocianova S., Voyich J. et al. A crucial role for exopolysaccharide modification in bacterial biofilm formation, immune evasion, and virulence. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 54881–6.
107. Walters S.P., Field K.G. Survival and persistence of human and ruminant-specific faecal Bacteroidales in freshwater microcosms. *Environ. Microbiol.* 2009; 11: 1410–21.
108. Wang Y., Ding L., Hu Y. et al. The flhDC gene affects motility and biofilm formation in *Yersinia pseudotuberculosis*. *Sci. China.* 2007; 50(6): 814–21.
109. Whitlam G.C., Codd G.A. Damaging effects of light on microorganisms. *Soc Gen Microbiol* (Special Publication). 1986; 17: 129–69.
110. WHO. *Guidelines for safe recreational-water environments*. Volume 1: Coastal and fresh waters. EPA Guidance Manual – Turbidity Provisions, 2001.

Сведения об авторах

Андрюков Борис Георгиевич – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова», телефоны: 8(423)-246-78-14, 89242304647; 690087, г. Владивосток, ул. Сельская, д. 1; e-mail: andrukov_bg@mail.ru;

Тимченко Нэлли Федоровна – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова, тел./факс: 8(423) 244-14-38; 690078, г. Владивосток, ул. Сельская, д. 1; e-mail: ntimch@mail.ru

Бынина Марина Павловна – младший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и микробиологии ФГБНУ «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова» (НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова); г. Владивосток, ул. Сельская, д. 1; e-mail: marina.bynina@mail.ru