

УДК 579.26.083

DOI: 10.34215/1609-1175-2023-3-9-14



Моделирование процессов меж- и внутривидового взаимодействия микроорганизмов в эксперименте на периодической культуре

А.А. Яковлев^{1,2}, А.В. Раков³, Ю.Н. Показеева¹, М.Ю. Щелканов¹¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова Роспотребнадзора, Владивосток, Россия² Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия³ Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия

Цель: демонстрация возможностей использования периодической культуры для изучения процессов взаимодействия микроорганизмов на модели ведущих в современный период в этиологии сальмонеллеза серотипов *Salmonella* Enteritidis и *S. Typhimurium* в формируемой ими микробной ассоциации в эксперименте *in vitro* как между собой, так и в сочетании с *Yersinia pseudotuberculosis* и *Shigella flexneri*. **Материалы и методы.** Экспериментальную модель ассоциаций *in vitro* создавали путем совместного культивирования штаммов разных микроорганизмов на LB-бульоне. В работе использованы штаммы сальмонелл и *Yersinia pseudotuberculosis*, хранящиеся в музее НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова при температуре -80 °С. Наблюдение за поведением ассоциации проводили в течение 24 ч при 37 °С на качалке. В качестве контроля были изучены кривые роста всех взятых в разработку штаммов в монокультуре. На первом этапе исследований проводили сокультивирование *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium*; на втором – к эксперименту подключили штаммы *Yersinia pseudotuberculosis* и *Shigella flexneri* – эталонный штамм ATCC 12022. **Результаты.** В контрольном эксперименте рост испытываемых культур был довольно похож, тогда как в ассоциации при смешении *S. Typhimurium* существенно опережала в росте *S. Enteritidis*. Аналогичное исследование, проведенное с тремя патогенами, также позволило установить, что при росте в монокультуре существенных различий в темпах роста между ними не было выявлено, тогда как в ассоциации рост *Y. pseudotuberculosis* значительно подавлялся с самого начала наблюдения в течение первого часа. В этих условиях доминирующее положение заняла *S. Enteritidis*. **Заключение.** В итоге наши исследования свидетельствуют о том, что в периодической культуре можно изучать процессы взаимодействия как между различными видами микроорганизмов, так и их внутривидовые взаимоотношения. Как мы полагаем, полученные результаты взаимодействия в определенной мере могут быть объяснены одним из основных кинетических принципов экологии – принципа конкурентного исключения Гаузе, который утверждал невозможность сосуществования двух видов в одной экологической нише при конкуренции за источник питания.

Ключевые слова: *Salmonella enterica*, периодическая культура, взаимодействие, микроорганизмы

Поступила в редакцию: 05.06.23. Получена после доработки: 08.06.23, 14.06.23, 22.06.23. Принята к публикации: 03.07.23

Для цитирования: Яковлев А.А., Раков А.В., Показеева Ю.Н., Щелканов М.Ю. Моделирование процессов меж- и внутривидового взаимодействия микроорганизмов в эксперименте на периодической культуре. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2023;3:9–14. doi: 10.34215/1609-1175-2023-3-9-14

Для корреспонденции: Яковлев Анатолий Александрович – д-р мед. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории кишечных инфекций ФГБНУ «НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова» Роспотребнадзора, профессор кафедры эпидемиологии ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет»; ORCID: 0000-0002-7008-3804; тел. +7 (908) 970-93-37; e-mail: yakovlev-epid@yandex.ru

Modeling inter- and intraspecific interaction of microorganisms in a batch culture experiment

А.А. Yakovlev^{1,2}, А.В. Rakov³, Yu.N. Pokazeeva¹, M.Yu. Shchelkanov¹¹ Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.P. Somov, Vladivostok, Russia; ² Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia; ³ Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor, Moscow, Russia

Aim. To demonstrate the possibility of using a batch culture model to study the interaction of *Salmonella* Enteritidis and *Salmonella* Typhimurium, which are currently the leading serotypes in the etiology of salmonellosis, in an *in vitro* experiment both among themselves and in combination with *Yersinia pseudotuberculosis* and *Shigella flexneri*. **Materials and methods.** An experimental model of microorganism associations *in vitro* was created by co-cultivation of different microorganism strains in an LB broth. The *Salmonella* and *Yersinia pseudotuberculosis* strains stored in the museum of G.P. Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology at a temperature of -80 °C were used. The behavior of the associations under study was monitored for 24 h at 37 °C on a shaker. As a control, the growth curves of all the strains in monoculture were studied. The first research stage involved culturing *S. Enteritidis* and *S. Typhimurium* followed by addition of *Yersinia pseudotuberculosis* and *Shigella flexneri* strains (reference strain ATCC 12022) at the second stage. **Results.** In the control experiment, the growth of the tested cultures was quite similar. However, when grown in associations, *S. Typhimurium* outgrew *S. Enteritidis*. A similar study conducted with three pathogens also revealed that, when grown in monoculture, the strains exhibit no significant differences in the growth rates. However, when grown in associations, the growth of *Y. pseudotuberculosis* is significantly suppressed from the onset of observation during the first hour. Under these conditions, *S. Enteritidis* takes the dominant position. **Conclusion.** Our results demonstrate that batch culture can be used to study the interaction between different types of microorganisms, as well as their intraspecific relationships. We assume that the observed behavior of microorganisms can be explained, to a certain

extent, by Gause's law of competitive exclusion. This principle implies that two species competing for the same limited food source cannot coexist in one ecological niche.

Keywords: *Salmonella enterica*, batch culture, interaction, microorganisms

Received 5 June 2023; Revised 8, 14, 22 June 2023; Accepted 3 July 2023

For citation: Yakovlev A.A., Rakov A.V., Pokazeeva Yu.N., Shchelkanov M.Yu. Modeling inter- and intraspecific interaction of microorganisms in a batch culture experiment. *Pacific Medical Journal*. 2023;3:9–14. doi: 10.34215/1609-1175-2023-3-9-14

Corresponding author: Anatoly A. Yakovlev, Cand. Sci. (Med.), Professor of the Department of Epidemiology Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russia); ORCID: 0000-0002-7008-3804; phone: +7 (908) 970-93-37; e-mail: yakovlev-epid@yandex.ru

В настоящее время как в нашей стране, так и за рубежом [1–8] активно изучаются процессы взаимоотношения между микроорганизмами. Эта тема имеет как фундаментальное, так и практическое значение в первую очередь для медицины. Понимание механизмов коммуникации и конкуренции между микроорганизмами поможет выработать новые стратегии в борьбе с инфекционными заболеваниями.

Моделирование сообществ является необходимым этапом для понимания деятельности микроорганизмов в их естественной среде обитания. Однако в настоящий период каких-либо универсальных методик по изучению процессов взаимодействия не выработано. Поэтому, как правило, указанные процессы рассматриваются на моделях, предназначенных для изучения монокультур микроорганизмов.

Как показывают исследования по данной проблеме, экспериментальное изучение взаимодействия микробных (бактериальных) популяций, во-первых, можно проводить *in vitro* путем наблюдения за их развитием в периодических или хемотратных культурах [9]. Во-вторых, к настоящему времени получены многочисленные данные, свидетельствующие о способности микроорганизмов к обитанию как в разных условиях окружающей среды, так и в организме хозяина, в виде биопленок [6, 10]. Последние также можно использовать для изучения процессов взаимодействия между микроорганизмами [11]. В настоящей работе представлен опыт наших исследований по моделированию межбактериального взаимодействия в периодической культуре, поскольку мы занимаемся этим направлением с середины 1990-х годов.

Цель исследования: демонстрация возможностей использования периодической культуры для изучения процессов взаимодействия микроорганизмов. Цель первого этапа исследований – изучение внутривидового взаимодействия между двумя ведущими в современный период в этиологии сальмонеллеза серотипами *Salmonella enterica* subsp. *enterica* серотип Enteritidis (*S. Enteritidis*) и *Salmonella enterica* subsp. *enterica* серотип Typhimurium (*S. Typhimurium*) в формируемой ими микробной ассоциации в эксперименте *in vitro* как между собой, так и в сочетании с *Yersinia pseudotuberculosis* и *Shigella flexneri*.

Материалы и методы

Штаммы микроба. *Salmonella enterica* и *Yersinia pseudotuberculosis* – актуальные бактериальные патогены, формирующие вспышки инфекций, в основном

пищевого характера. Принимая во внимание накопленный опыт работы с этими микроорганизмами в лаборатории молекулярной эпидемиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова и большой выбор объектов исследования в музейной коллекции института, эти виды были нами отобраны в качестве моделей для их изучения в микробной ассоциации при наблюдении в периодической культуре.

В работе использованы следующие штаммы сальмонелл: *S. Enteritidis* S-118 (с плазмидной массой 38 MDa), S-26292 (38 MDa) и S-26895 (38;1,4 MDa), *S. Typhimurium* S-23513 (60 MDa) и S-18187 (не содержащий плазмид). Все штаммы хранились в музее НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.П. Сомова при температуре -80 °С. Необходимо отметить, что плазмиды с молекулярной массой 38 MDa и 60 MDa являются плазмидами вирулентности pSEV и pSTM для *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* соответственно.

Модель исследования ассоциации *S. enterica* в периодической культуре

Экспериментальную модель ассоциаций *in vitro* создавали путем их совместного культивирования на LB-бульоне. Для исследования бактерии предварительно выращивали до изолированных колоний на чашках Петри с питательным агаром (pH 7,2–7,3). Образцы культивировали при 37 °С. Затем штаммы высевали на LB-бульон (pH 7,2–7,3) и выращивали на качалке при 37 °С в течение 18 ч. Спектрофотометрическим методом оптическую плотность (OD при 600 нм) штамма с большим ростом доводили до оптической плотности штамма с меньшим ростом путем разведения LB-бульоном. Для опыта две исследуемые культуры сальмонелл смешивали в равных количествах путем внесения в LB-бульон из расчета 1 мкл каждой бактерии на 1000 мкл среды. Наблюдение за поведением ассоциации проводили в течение 24 ч при 37 °С на качалке. Смеси культур в определенные промежутки времени (через 1, 3, 6 и 24 ч после смешивания) высевали по 100 мкл на чашки Петри с питательным агаром с учетом необходимых разведений (от 10⁻⁶ до 10⁻¹¹) до появления изолированных колоний. Культуры бактерий инкубировали при 37 °С в течение 18 ч. Прирост бактериальной массы определяли по количеству колониеобразующих клеток, выросших на среде. Случайным образом отбирали 16 изолированных колоний из разных секторов чашки, сеяли на скошенный питательный агар (pH 7,2–7,3) и инкубировали при 37 °С в течение 18 ч.

При смешивании серотипов *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* на следующие сутки после

инкубации полученные вышеописанным способом культуры серотипировали в реакции агглютинации на стекле с помощью сывороток диагностических сальмонеллезных адсорбированных «Петсал» (ФГУП СПбНИИВС) на наличие соответствующего одному из двух серотипов О-антигена (О:9 для *S. Enteritidis* и О:4 для *S. Typhimurium*) и подсчитывали процент колоний соответствующего серотипа.

При смешивании разных плазмидных типов серотипа *S. Enteritidis* на следующие сутки после инкубации полученные описанным выше образом культуры исследовали в плазмидном анализе по методике С.Л. Kado и S.T. Liu [12] для установления плазмидного спектра и подсчитывали процент колоний соответствующего плазмидного типа.

Было проведено по три независимых эксперимента для каждой ассоциации. Высчитывали средний процент колоний соответствующего серотипа или плазмидного типа через 1, 3, 6 и 24 ч после смешивания штаммов.

Важно подчеркнуть, что в доступной литературе мы встретили в основном изучения процессов сокультивирования в виде бикультур. Поэтому на следующем этапе наших исследований мы провели аналогичное исследование с тремя патогенами, предварительно изучив рост штаммов как монокультур в качестве контроля, дополнительно используя в данном эксперименте возбудителей *Y. pseudotuberculosis* и *Shigella flexneri* [*Shigella flexneri* sv 2b Gp B – эталонный штамм ATCC 12022 (производитель Remel Europe, Ltd, UK)].

Статистическую обработку всего массива полученных результатов проводили общепринятыми методами в программе Microsoft Excel 2010.

Результаты исследования

В качестве контроля нами первоначально были изучены кривые роста взятых в разработку штам-

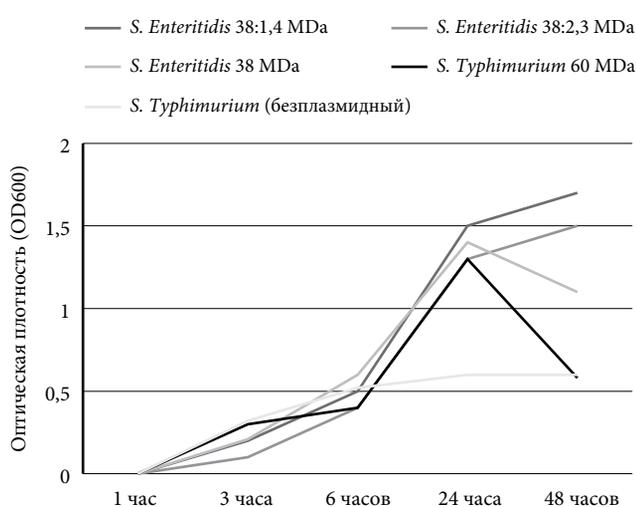


Рис. 1. Рост исследуемых штаммов *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* в монокультуре при культивировании *in vitro* в LB-бульоне при температуре 37 °C (контроль роста).

мов сальмонелл в монокультуре (контроль роста). Результаты представлены на рис. 1.

Как видно на рисунке, все штаммы росли в LB-бульоне в течение 6 часов (время наблюдения) схожим образом, и тенденции кривых роста в основном отличались друг от друга в пределах статистической погрешности. Тем не менее наименьшая интенсивность роста отмечена у *S. Enteritidis*, не имеющей плазмиды. А рост *S. Typhimurium* с плазмидой 60 MD, в отличие от других испытуемых штаммов, перешел к фазе отмирания уже через 24 часа эксперимента.

Экспериментальную модель ассоциаций *in vitro* создавали путем совместного культивирования испытуемых штаммов на LB-бульоне. Результаты исследования штаммов сальмонелл, содержащих плазмиды вирулентности: *S. Enteritidis* S-26292 с pSEV (массой 38 MDa) и *S. Typhimurium* S-23513 с pSTM (массой 60 MDa) показали, что через 1 ч после смешивания скорость роста культур была примерно одинакова, при этом число колоний *S. Enteritidis* незначительно превышало число колоний *S. Typhimurium* (55 и 45%) (рис. 2).

Но уже через 3 ч после смешивания *S. Typhimurium* значительно опережала росте *S. Enteritidis* (83% против 17%), а через 6 ч частота выделения *S. Typhimurium* достигала 92%. Важно подчеркнуть, что переход к фазе отмирания в опыте для *S. Enteritidis* наступил гораздо раньше, чем в контроле.

На следующем этапе исследования нами было прослежено возможное влияние плазмиды вирулентности на большую конкурентоспособность к росту в LB-бульоне *S. Typhimurium* по сравнению с *S. Enteritidis*. Для этого с использованием ранее описанной методики изучали микробную ассоциацию *S. Enteritidis* S-26292 с плазмидой вирулентности массой 38 MDa (pSEV) и *S. Typhimurium* S-18187, не содержащей плазмид. Через 1 ч после смешивания двух штаммов культуры росли примерно с одинаковой скоростью (54% *S. Typhimurium* и 46% *S. Enteritidis*) (рис. 3).

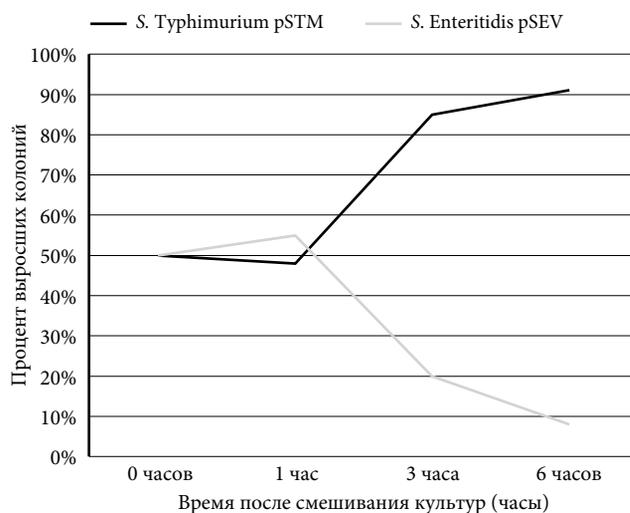


Рис. 2. Рост штаммов *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium*, содержащих плазмиды вирулентности, при совместном культивировании *in vitro*.

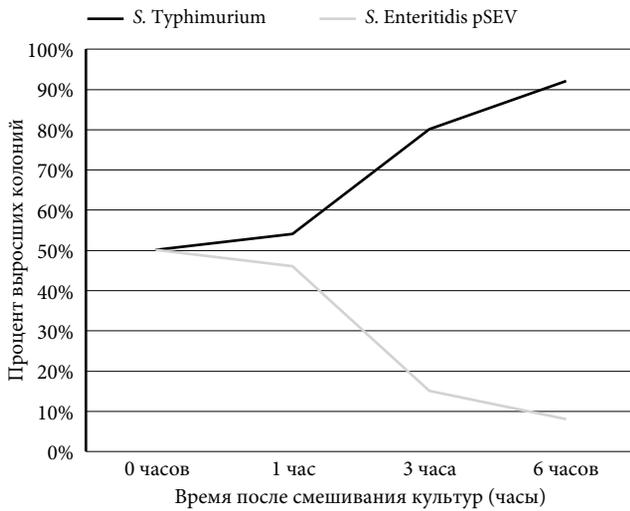


Рис. 3. Рост штаммов *S. Enteritidis*, содержащей плазмиду вирулентности, и бесплазмидной *S. Typhimurium* при совместном культивировании *in vitro*.

Однако через 3 ч количество колоний *S. Typhimurium*, как и в контроле, возросло до 82%, тогда как *S. Enteritidis* снизилось до 18%. Через 6 ч доля *S. Typhimurium* уже составила 93%.

Полученные результаты были близки к таковым на первом этапе исследования и показали, что наличие или отсутствие плазмиды вирулентности у *S. Typhimurium* никак не влияет на ее способность к доминированию при сокультивировании с *S. Enteritidis* в условиях *in vitro*. Вместе с тем необходимо отметить, что даже после 6 ч совместного роста можно было обнаружить *S. Enteritidis*, но ее присутствие не превышало 10% от общего числа колоний. По этой причине на следующем этапе эксперимента дополнительно исследовали колонии, полученные через 24 часа сокультивирования. Так, наблюдение за микробной ассоциацией *S. Enteritidis* двух разных плазмидных типов показало, что в условиях обитания в LB-бульоне *S. Enteritidis* плазмидного типа 38 MDa способна подавлять размножение *S. Enteritidis* плазмидного типа 38:1,4 MDa, опережая ее рост, тогда как при наблюдении в монокультуре размножение *S. Enteritidis* плазмидного типа 38:1,4 MDa явно доминировало. Популяции *S. Enteritidis* плазмидных типов 38 MDa и 38:1,4 MDa развивались параллельно лишь в течение 1-го часа (рис. 4).

В дальнейшие часы наблюдения *S. Enteritidis* плазмидного типа 38 MDa постоянно опережала *S. Enteritidis* плазмидного типа 38:1,4 MDa по динамике роста. Концентрация *S. Enteritidis* плазмидного типа 38 MDa в среде через 6 ч достигала 87% от общего количества бактерий, а через 24 ч – 100%.

На следующем этапе наших исследований мы провели аналогичный эксперимент с тремя патогенами, предварительно изучив рост штаммов как монокультур в качестве контроля (рис. 5), дополнительно используя в данном исследовании возбудителей *Y. pseudotuberculosis* и *Shigella flexneri*.

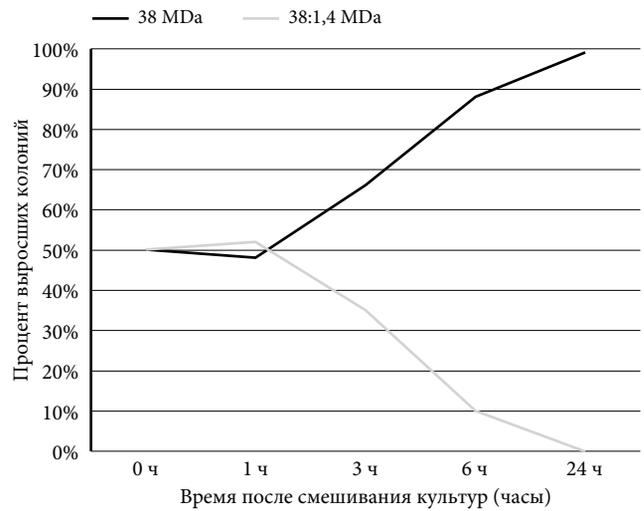


Рис. 4. Рост штаммов *S. Enteritidis*, содержащей плазмиду вирулентности массой 38 MDa, и *S. Enteritidis*, содержащей плазмиду вирулентности массой 38 MDa с криптической плазмидой массой 1,4 MDa, при совместном культивировании *in vitro*.

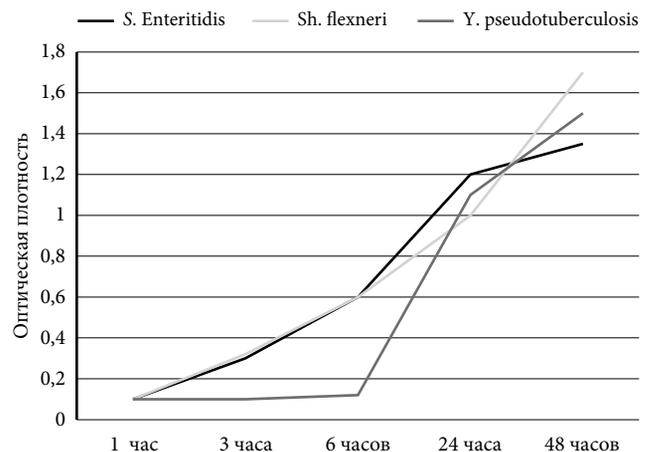


Рис. 5. Кривые роста штаммов энтеробактерий: *S. Enteritidis*, *S. flexneri* и *Y. pseudotuberculosis* в монокультуре в LB-бульоне при температуре 37 °C (контроль роста).

Как видно на рис. 5, весь период наблюдения испытываемые культуры росли примерно с одинаковой скоростью в монокультуре, тогда как в мультивидовой культуре (опыт) рост иерсинии значительно подавлялся с самого начала наблюдения в течение первого часа (рис. 6).

Важно отметить, что в опыте кривые, отражающие рост культур сальмонеллы и шигеллы, не совпадали в динамике. В представленной мультивидовой культуре доминировала сальмонелла (рис. 6), при этом увеличение активности роста *S. Enteritidis* в определенный период эксперимента сопровождался снижением интенсивности роста шигеллы, и наоборот. Как мы полагаем, такая динамика позволяет данным микроорганизмам более эффективно использовать ограниченные ресурсы питательных веществ в используемой для роста среде. Отсутствие роста *Y. pseudotuberculosis* при сокультивировании с двумя другими патогенами,

возможно обусловлено субоптимальными условиями культивирования этого психрофильного микроба, поскольку оптимальной температурой роста для него является комнатная температура (20 °С).

Обсуждение полученных данных

Проведенные исследования показали, что стратегия развития испытуемых микроорганизмов существенно отличается при росте в монокультуре и в виде ассоциаций при сокультивировании. При этом не отмечено одинаковой выраженности в скорости роста тех или иных микроорганизмов в моно- и поликультуре. Надо полагать, что при взаимодействии микробов при сокультивировании реализуются интеграционно-конкурентные взаимоотношения между ними [2], что позволяет в ограниченных питательными ресурсами периодической культуре одному из микроорганизмов добиваться конкурентного преимущества, обеспечивающего его жизнеспособность за счет использования питательных веществ, предназначенных для всех культивируемых в данной питательной среде микроорганизмов. В частности, представленные результаты исследования свидетельствуют о том, что *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* связаны конкурентными взаимоотношениями и этот механизм является ведущим в процессе их саморегуляции в микробиоценозе. Но в естественной среде в современный период в большинстве регионов доминирует *S. Enteritidis*, тогда как в условиях нашего эксперимента – *S. Typhimurium*. Причины несоответствия остаются пока неясными. Возможно, на результатах эксперимента сказываются штаммовые различия *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium*, примененных в эксперименте и циркулирующих в естественной среде.

В итоге наши исследования свидетельствуют о том, что в периодической культуре можно изучать процессы взаимодействия как между различными видами микроорганизмов, так и их внутривидовые взаимоотношения. При этом процессы роста испытуемых культур при монокультивировании и сокультивировании значительно различались. В частности, полученные результаты показали, что в процессе совместного роста штаммов в периодической бикультуре наблюдается «эффект экзальтации», который выражается в быстром росте обоих видов в первый час эксперимента и последующим замещением одного, более приспособленного вида другим. Такое замещение нельзя назвать полным, поскольку существует вероятность перехода менее приспособленного вида в некультивируемое состояние – дормантную форму существования (метаболически неактивные, некультивируемые клетки прокариот, VNBC) [13].

Как мы полагаем, все вышеописанные процессы взаимодействия в определенной мере могут быть объяснены одним из основных кинетических принципов экологии – принципа конкурентного исключения Гаузе [14], который утверждал невозможность сосуществования двух видов в одной экологической нише

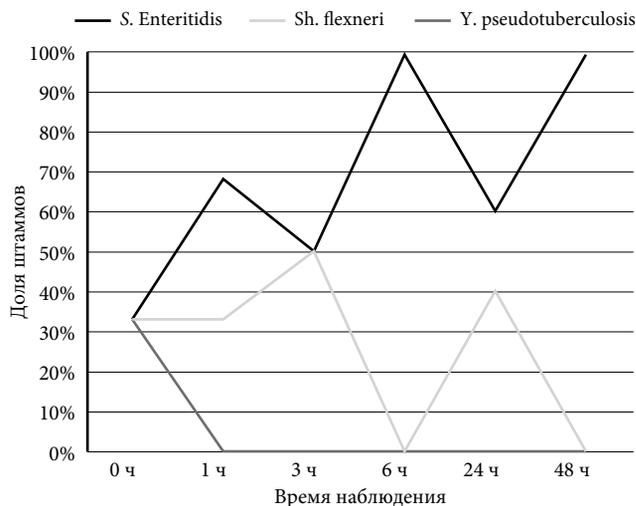


Рис. 6. Доля штаммов разных энтеробактерий при сокультивировании *S. Enteritidis*, *Sh. flexneri* и *Y. pseudotuberculosis* в микст-культуре в LB-бульоне при температуре 37 °С.

при конкуренции за источник питания. Дальнейшее изучение возможных взаимоотношений между микроорганизмами, вовлеченными в инфекцию, а также механизмов этого взаимодействия имеет решающее значение в понимании процессов, идущих на суборганизменном уровне эпидемического процесса и их отражения на популяционном [3, 4].

Выводы

1. Рост *S. Enteritidis* и *S. Typhimurium* в монокультуре, развиваясь с одинаковым темпом в течение первых 6 часов наблюдения, в последующие (24 и 48 ч) стал существенно отличаться по темпам и фазе развития в периодической культуре в зависимости от серотипа и принадлежности к тем или иным плазмидным типам.
2. Наличие или отсутствие плазмиды вирулентности у *S. Typhimurium* не повлияло на ее доминирование при сокультивировании с *S. Enteritidis*.
3. В условиях обитания в LB-бульоне *S. Enteritidis* плазмидного типа 38 MDa при сокультивировании подавляла рост и размножение *S. Enteritidis* плазмидного типа 38:1,4 MDa, тогда как наблюдение в монокультуре показало, что рост и размножение *S. Enteritidis* плазмидного типа 38:1,4 MDa, явно доминировало.
4. В отличие от сальмонелл в монокультуре все испытуемые микроорганизмы: *S. Enteritidis*, *Sh. flexneri* и *Y. pseudotuberculosis* на протяжении всего срока наблюдения (48 ч) росли с примерно одинаковой скоростью, тогда как при сокультивировании рост *Y. pseudotuberculosis* был подавлен в течение первого часа наблюдения, а наибольшую конкурентоспособность продемонстрировала *S. Enteritidis*.
5. В периодической культуре можно изучать процессы взаимодействия как между различными видами микроорганизмов, так и их внутривидовые взаимоотношения. Экспериментальное изучение взаимодействия микробных популяций путем наблюдения за их развитием в периодической культуре при создании

микроэкосистем – необходимый этап для понимания деятельности микроорганизмов в их естественной среде обитания.

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

Финансирование исследования: авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – ЯАА, РАВ

Сбор и обработка материала – РАВ, ПЮН

Статистическая обработка – РАВ

Написание текста – ЯАА, РАВ

Редактирование – ЯАА, ЩМЮ

Литература / References

1. Бухарин О.В., Лобакова Е.С., Немцева Н.В., Черкасов С.В. Ассоциативный симбиоз. – Екатеринбург: УрО РАН; 2007; 264 с. [Buharin OV, Lobakova ES, Nemceva NV, Cherkasov SV. *Associative symbiosis*. Ekaterinburg: UrO RAN; 2007; 264 p. (In Russ.)].
2. Яковлев А.А. Концепция интеграционно-конкурентного развития эпидемического процесса. *Тихоокеанский медицинский журнал* 2006;3(25):10–4 [Yakovlev AA. The concept of integration-competitive development of the epidemic process. *Pacific Medical Journal* 2006;3(25):10–4 (In Russ.)].
3. Яковлев А.А., Раков А.В., Поздеева Е.С. Значение межвидовых и внутривидовых взаимодействий микроорганизмов как суборганизменного уровня в иерархии эпидемического процесса. *Эпидемиология и инфекционные болезни* 2020;25(3):118–28. [Yakovlev AA, Rakov AV, Pozdeyeva ES. The significance of interspecific and intraspecific interactions of microorganisms as a suborganismal level in the hierarchy of the epidemic process. *Epidemiology and Infectious Diseases* 2020; 25(3):118–28 (In Russ.)].
4. Яковлев А.А., Поздеева Е.С. О возможных механизмах саморегуляции паразитарных систем в биогеоценозе. *Вестник РАМН*. 2018;73(3):184–94 [Yakovlev AA, Pozdeyeva ES. Possible mechanisms of self-regulation of parasitic systems in the biogeocenosis *Vestnik RAMN* 2018;73(3): 184–94. (In Russ.)].
5. Миллер Г.Г. Биологическое значение ассоциаций микроорганизмов. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2000;1:45–51. [Miller GG. Biological significance of associations of microorganisms. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2000;(1):45–51 (In Russ.)].
6. Comolli LR. Intra- and inter-species interactions in microbial communities. *Front. Microbiol.* 2014;5:629. doi: 10.3389/fmicb.2014.00629
7. Barton ES, White DW, Cathelyn JS, et al. Herpesvirus latency confers symbiotic protection from bacterial infection. *Nature* 2007;447(7142):326–9. doi: 10.1038/nature05762
8. Ларин Ф.И., Жукова Л.И., Лебедев В.В., Рафеенко Г.К. Интерферирующее взаимодействие вирусов в регуляции эпидемического процесса. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2012;1:25–9. [Larin FI, Zhukova LI, Lebedev VV, Rafeenko GK. Interference interaction of viruses in the regulation of an epidemic process. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2012;(1):25–9. (In Russ.)].
9. Печуркин Н.С. Популяционная микробиология. Новосибирск, 1978. 277 с. [Pechurkin NS. *Population microbiology*. Novosibirsk. 1978. (In Russ.)].
10. Тимченко Н.Ф., Раков А.В., Терентьева Н.А., Псарева Е.К., Яковлев А.А. Характеристика смешанных биопленок бактерий семейства *Enterobacteriaceae* *Yersinia pseudotuberculosis* и *Salmonella Enteritidis* in vitro. Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2019;1(77):19–22. [Timchenko NF, Rakov AV, Terentyeva NA, Psareva EK, Yakovlev AA. Characteristics of mixed biofilms of bacteria of the *Enterobacteriaceae* *Yersinia pseudotuberculosis* families and *Salmonella Enteritidis* in vitro. *Health. Medical Ecology. Science*. 2019;1(77):19–22 (In Russ.)].
11. Шкарин В.В., Саперкин Н.В. Взаимодействие возбудителей, сочетанных инфекций при комплексной коморбидности (теоретические и практические вопросы). *Инфекционные болезни*. 2021;5(11):737–43 [Shkarin VV, Saperkin NV. Interaction of pathogens, combined infections in complex comorbidity (theoretical and practical issues). *Infectious Diseases*. 2021;5(11):737–43. doi: 10.32364/2587-6821-2021-5-11-737-743 (In Russ.)].
12. Kado CL, Liu ST. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J.Bacteriology* 1981;145(3):1365–73.
13. Белов А.Б., Огарков П.И. Эколого-эпидемиологическая систематика инфекционных болезней. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2009;(6):49–54. [Belov AB, Ogarkov PI. Ecological and epidemiological systematics of infectious diseases. *Epidemiology and Infectious Diseases*. 2009;(6): 49–54 (In Russ.)].
14. Калина Г.П., Трухина Г.М., Гришин Т.Д. Многомерность ниш в законе Гаузе применительно к прокариотам и метод пространственного разделения конкурирующих ассоциаций. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 1989;10:10–7. [Kalina GP, Truhina GM, Grishin TD. The multidimensional character of the niches in Gause's law applicable to prokaryotes and the methods for the spatial separation of competing associates. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 1989;10:10–7 (In Russ.)].