

ФЕНОТИПИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ПАТОГЕННОСТИ У БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ КИШЕЧНИКА ЖИВОТНЫХ С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ДИСБАКТЕРИОЗОМ, ВЫЗВАННЫМ ПРИМЕНЕНИЕМ δ -ЭНДОТОКСИНОВ *BACILLUS THURINGIENSIS*

Климентова Елена Георгиевна¹, кандидат биологических наук, доцент

Рассадина Екатерина Владимировна¹, кандидат биологических наук, доцент

Феоктистова Наталья Александровна², кандидат биологических наук, доцент

¹ФГБОУ ВО Ульяновский государственный университет,

г. Ульяновск, ул. Л. Толстого, 42. Тел. 8(8422)272464, kloushel@mail.ru

²ФГБОУ ВО Ульяновская ГСХА

432017, г. Ульяновск, б. Новый Венец, 1. Тел. 8(8422)559547, feokna@yandex.ru

Ключевые слова: эндотоксины *Bacillus thuringiensis*, микроорганизмы желудочно-кишечного тракта, патогенность бактерий.

Устойчивость условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ) к факторам защиты макроорганизма и их способность к размножению *in vivo* определяется специфическими для возбудителя факторами патогенности и персистенции. Эти свойства могут усиливаться, ослабляться или вовсе исчезать под воздействием антибиотиков, токсинов и других факторов, что может привести к патологическим изменениям в микробном биоценозе. Данные о биологической активности Cry-белков параспоральных кристаллов *B. thuringiensis* в отношении различных микроорганизмов появились сравнительно недавно, поэтому изучение действия этих белковых включений актуально для всестороннего понимания их экологической роли в микробиоценозах желудочно-кишечного тракта теплокровных животных, куда токсические белки могут поступать вместе с продукцией. Определение фенотипических признаков патогенности УПБ, выделенных из кишечника животных с признаками экспериментального дисбактериоза, вызванного длительным применением высоких доз дельта-эндотоксинов *B. thuringiensis* классов CryIA и Cry2, проведено по общепринятым методикам. Исследование позволило установить, что наличие и частота факторов патогенной и персистенции активности у выделенных от животных с экспериментальным дисбактериозом изолятов УПБ, оказались намного больше, чем у штаммов, обнаруженных у животных контрольной группы. Отмечено также резкое нарастание частоты проявления данных показателей в группах как лактозопозитивных, так и лактозонегативных гемолитических штаммов *E. coli*, вплоть до 100% уровня по антилизосимной и антиинтерфероновой активности. Таким образом, в условиях *in vivo* действие высоких доз дельта-эндотоксинов *B. thuringiensis* вызвало резкое усиление факторов персистенции и патогенности среди штаммов УПБ. Из этого следует, что изменение биологических свойств микроорганизмов является возможным риском, связанным с применением как трансгенных *Bt*-растений, так и биопестицидов, содержащих белки, которые обладают бактерицидной активностью.

Введение

Для каждого вида микроорганизмов характерен комплекс фенотипических и генотипических маркеров патогенности. По мнению некоторых авторов [1], именно реализация патогенного потенциала условно-патогенных бактерий определяет способность изолята вызывать различные заболевания. Устойчивость бактерий к факторам защиты макроорганизма, их способность к размножению *in vivo* определяется специфическими для возбудителя факторами, химическая природа которых у различных представителей микроорганизмов достаточно хорошо изучена [2]. Первым моментом начального этапа взаимодействия бактерии с организмом-хозяином является адгезия, которая осуществляется благодаря наличию специальных адгезинов, входящих в состав фимбрий или поверхностных структур клеточной стенки большинства представителей условно-патогенных бактерий. Преодолев защитные механизмы хозяина, бактерии достигают определенного популяционного уровня, синтезируя при этом высоко специфические токсины или токсические вещества, которые

поражают чувствительные клетки макроорганизма, вызывая развитие определенных симптомов дисбиотических нарушений и других заболеваний [3]. Бактериальные экзотоксины способны повреждать плазматическую мембрану эукариотических клеток с помощью ферментативного гидролиза или в результате формирования пор, вызывая прямой лизис клеток и способствуя распространению бактерий. Порообразующие токсины и ферменты способны нарушать селективный вход и выход ионов через плазматическую мембрану. Эта группа токсинов включает цитолизины, гемолизины граммотрицательных условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ), лейкотоксины, металлопротеазы, липазы. При образовании пор под действием гемолизина запускаются вторичные процессы, которые обуславливают развитие патологических последствий [4]. В опытах с применениями молекулярно-генетического анализа были получены данные, свидетельствующие о наличии близкого родства как в молекулярном строении токсинов энтеробактерий, так и их генетических детерминант, ответственных за проявление токсичности микро-

организмов. Некоторые патовары УПЭ могут обладать несколькими факторами патогенности, что дает им возможность размножаться в различных эпитопах хозяина. Появление токсигенных клонов условно-патогенных энтеробактерий *in vivo* объясняется тем, что локус токсигенности наиболее часто располагается в плаزمиде и обычно является конъюгативным [5].

Одним из наименее изученных вопросов является прямое воздействие параспоральных белковых кристаллов (δ – эндотоксинов) *B. thuringiensis* – основных компонентов многих биопестицидов и Bt-растений на биологические свойства микроорганизмов желудочно-кишечного тракта, в том числе и патогенные свойства. Вместе с тем показано, что данные белки обладают выраженной бактерицидной активностью [6, 7] и, следовательно, потенциально способны вызвать изменения биологических свойств микроорганизмов.

Таким образом, актуальным является исследование, позволяющее установить характер эффектов воздействия параспоральных белков *B. thuringiensis* на изменение факторов патогенности бактерий микрофлоры желудочно-кишечного тракта теплокровных животных в опытах как *in vitro*, так и *in vivo*.

Объекты и методы исследований

В работе использовали растворы белковых кристаллов δ - эндотоксинов классов CryIA и Cry2 *B. thuringiensis subsp. Kurstaki* штамм Z-52, полученный из ФГУП ГосНИИ Генетики и селекции промышленных микроорганизмов. Белки выделяли по известной методике с помощью п-ксилола и активировали до активных токсинов, перерастворяя в 0,02 М фосфатном буфере [7]. В эксперименте были задействованы белые беспородные мыши возраста 5-6 месяцев со средним весом $26,0 \pm 3,0$ г. В соответствии с требованиями «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 № 755), все животные содержались в виварии в клетках. Условия в отношении температуры, влажности и освещения, а также рациона питания были сходными. Каждому животному ежедневно в течение 28 суток в первой половине дня вводили перорально с помощью зонда растворы дельта – эндотоксинов концентрации от 1 до 100 мг/кг веса. На 28 сутки проведения эксперимента животных подвергали усыплению эфиром, вскрывали и проводили отбор содержимого кишечника для исследования микробиоты. Микроорганизмы выделяли и идентифицировали с использованием классических бактериологических методик [8,9,10], используя широкий набор коммерческих селективных и диагностических питательных сред и с помощью коммерческих тест-систем фирмы LACHEMA (Чехия): ENTEROtest (1 и 2), STREPTOtest, NEFERMtest, STAPYtest, а также по морфологиче-

ским, биохимическим и культуральным признакам, согласно определителю Берджи (1997). Изучение антилизоцимной, антиинтерфероновой и антикомплементарной активности штаммов культуры *E. coli* проводили по методу О.В. Бухарина [11], адгезивные и пленкообразующие свойства *E. coli* оценивали согласно описанной ранее методике [12]. Определение фосфатазной активности, протеолитической, гемолитической активности и способность экспрессировать фермент ДНКазу оценивали, используя общепринятые методики [13]. Использовались стандартные методы статистической обработки результатов исследований, графическая обработка материалов выполнена с помощью пакета прикладных программ Microsoft Excel 2007.

Результаты исследований

Определение фенотипических признаков патогенности было проведено у бактерий *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter spp.*, *Morganella morganii*, *Proteus spp.* и *Yersinia enterocolitica*. Известно, что способность микроорганизмов продуцировать щелочную фосфатазу может приводить к увеличению проницаемости клеточных мембран, протеолитическая и гемолитическая активность также оказывают повреждающее действие на клеточные мембраны, а способность экспрессировать фермент ДНКазу вызывает повреждение структуры нуклеиновых кислот [1].

Оценка фенотипических признаков штаммов условно-патогенных бактерий, коррелирующих с их патогенностью, выделенных из кишечника животных с дисбактериозом, обусловленным длительным действием высоких доз δ -эндотоксинов *B. thuringiensis* (от 50 до 100 мг/кг веса), позволила установить, что исследуемыми фенотипическими свойствами обладала достаточно большая часть протестированных изолятов культур (рис. 1).

При этом протеолитическая активность была установлена у 48,4% исследованных штаммов *Proteus spp.*, 56,3% - *E. coli* (тип), 58,6% - *Citrobacter spp.*, 59,2% - *Klebsiella spp.*, 60% - *S. aureus*, 64,3% - *Morganella morganii*, 66,7% - *Yersinia enterocolitica* и у 100% штаммов лактозонегативной *E. coli*. У значительно большего количества изолятов микроорганизмов отмечены свойства продуцировать фермент щелочную фосфатазу. Данный признак отмечен у 33,3% штаммов *Klebsiella spp.*, 35,7% штаммов *Morganella morganii*, у половины изолятов *Yersinia enterocolitica* и *E. coli* (тип), 55,2% *Citrobacter spp.*, 54% *S. aureus*, 66,7% исследованных штаммов *Proteus spp.* и у 100% изолятов лактозонегативной *E. coli*. ДНКазная активность, направленная на повреждение структуры нуклеиновых кислот, наблюдалась у 41,7% изолятов *Yersinia enterocolitica*, 42,8% *Morganella morganii*, 44,4% штаммов *Klebsiella spp.*, 55,2% *Citrobacter spp.*, у 57,5% *E. coli* (тип), 64% *S. aureus*, 67,3% исследован-

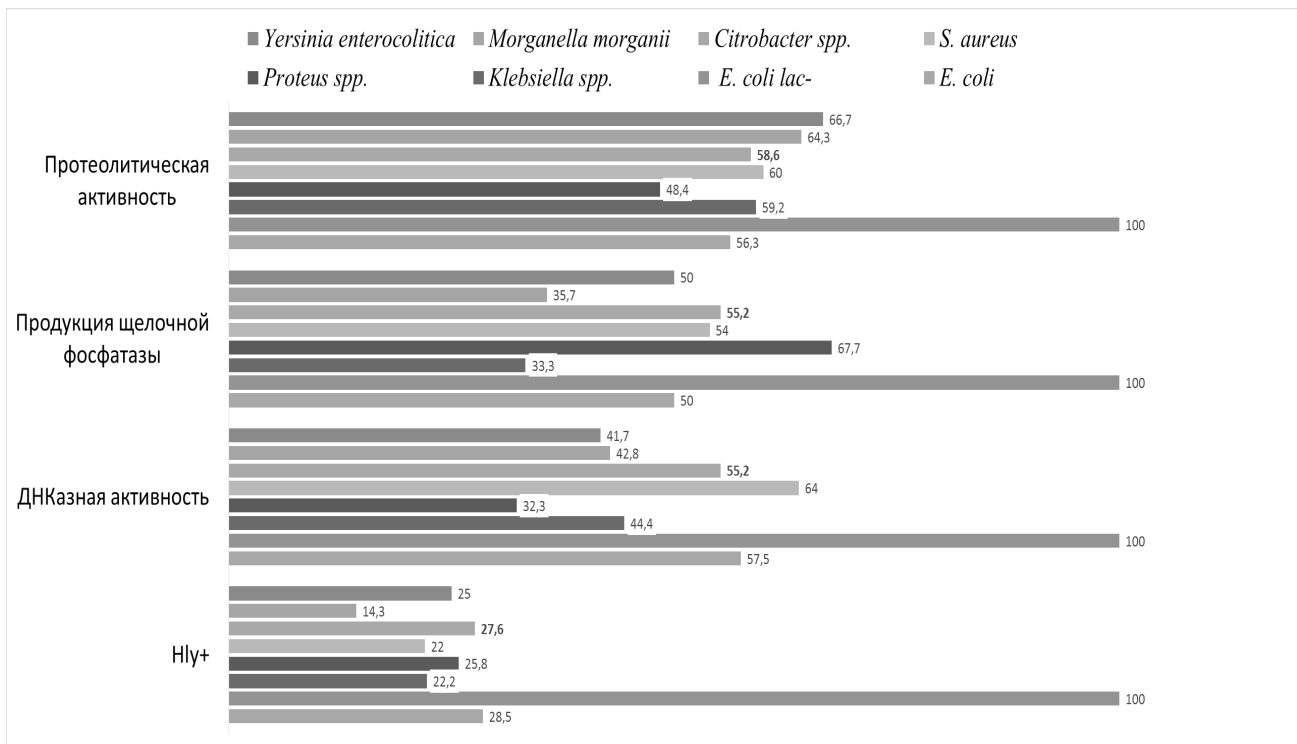


Рис. 1 - Видовая неоднородность фенотипических маркеров патогенности изолятов бактерий, выделенных из биотопа кишечника мышей с экспериментальным дисбактериозом, обусловленным действием высоких доз δ -эндотоксинов *B. Thuringiensis* (от 50 до 100 мг/кг веса).

ных штаммов *Proteus spp.*, и у 100% изолятов лактозонегативной *E. coli*. Значительно реже среди факторов патогенности у выделенных изолятов бактерий встречалась способность проявлять гемолитическую активность. Такими свойствами обладали 14,3% бактерий *Morganella morganii*, примерно одинаковое количество - от 22 до 28,5% изолятов *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, *E. coli (mul)*, *S. aureus*, *Proteus spp.*, но, в то же время, 100% штаммов лактозонегативной *E. coli*.

Проведенными исследованиями было выявлено, что в условиях экспериментального дисбактериоза, обусловленного длительным применением высоких доз δ -эндотоксинов *B. thuringiensis*, происходит усиление персистентного и патогенного потенциала культуры *E. coli* – одного из основных представителей облигатной микробиоты животных и человека (табл. 1).

В контрольной группе животных показатели патогенного и персистентного потенциала выделенных изолятов бактерий *E. coli*: ДНКазная активность, образование биопленок, гемолитическая активность, продукция щелочной фосфатазы, адгезивные свойства, антилизоцимная, антикомплементарная и антиинтерфероновая активности колебались незначительно и не имели значимых отличий по показателям от контрольного варианта.

Наличие и частота факторов как патогенной, так и персистентной активности у некоторых штаммов *E. coli*, выделенных от животных с экспери-

ментальным дисбактериозом, оказались намного больше, чем у штаммов, обнаруженных у животных контрольной группы, отличаясь на статистически значимую величину. Отмечено также резкое нарастание частоты проявления данных показателей в группах как лактозопозитивных, так и лактозонегативных гемолитических штаммов, вплоть до 100% уровня по антилизоцимной и антиинтерфероновой активности.

Чаще всего высокие показатели факторов патогенности и персистенции проявляли штаммы *E. coli*, выделенные из сложных микробиоценозов с двумя, тремя и четырьмя ассоциантами условно-патогенных бактерий и грибов, таких, как грампозитивные кокки родов *Staphylococcus spp.* и *Enterococcus spp.* и грамотрицательные энтеробактерии *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Morganella morganii* и *Yersinia enterocolitica*, а также дрожжеподобные грибы р. *Candida* и прочие.

Персистенция бактерий, в том числе и условно-патогенных, в желудочно-кишечном тракте обеспечивает сохранение их жизнеспособности за счёт приобретения ими устойчивости к защитным механизмам макроорганизма хозяина. Персистентные и патогенные свойства бактерий, усиливаясь или ослабляясь под воздействием антибиотиков, токсинов и других факторов, в том числе и бактериальных эндотоксинов, могут быть причиной патологических изменений в микробном биоценозе, и привести к развитию дисбактериоза [14]. В усло-

Таблица 1

Изменение патогенного и персистентного потенциала культуры *E. coli* у животных с экспериментальным дисбактериозом, обусловленным действием высоких доз δ -эндотоксинов *B. thuringiensis*.

Микроорганизм		Образование биопленок	ДНКаз	ПрЛитА	Продукция щелочной фосфатазы	Гемолитическая активность	АЛА	АКА	АИА	Адгезивные свойства
<i>E. coli</i> (тип)	Контроль	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔	↔
	Животные с дисбактериозом	↔	↔/↑	↔/↑	↔/↑	↔/↑	↔/↑	↔/↑	↔/↑	↔/↑
<i>E. coli</i> Hly+lac+		↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑
<i>E. coli</i> Hly+lac-		↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑	↑↑

Примечание: ДНКаз - ДНКазная активность; ПрЛитА - протеолитическая активность; АЛА - антилизоцимная активность; АКА - антикомплементарная активность; АИА - антиинтерфероновая активность; Lac+ лактозопозитивные штаммы; Lac- лактозонегативные штаммы; Hly-гемолитически неактивные штаммы; Hly+гемолитически активные штаммы; ↔ значение приведенного показателя колеблется незначительно; ↑ - у некоторых выделенных изолятов значение показателя несколько повышено по сравнению с контролем; ↔/↑ - у части выделенных штаммов культуры значение показателя или колеблется незначительно, или несколько повышено; ↑↑ - значение показателя значительно увеличено по сравнению с контролем.

виях проявления межмикробных взаимодействий возможно еще большее преобразование различных свойств бактерий, уже изменивших свои биологические свойства под действием биологически активных веществ, либо в сторону их усиления, либо — ослабления. Это может усложнить условия взаимоотношений между микроорганизмами, выделенными из сложных микробиоценозов с двумя, тремя, четырьмя и более ассоциантами.

Выводы

Таким образом, в условиях *in vivo* действие высоких доз δ -эндотоксинов *B. thuringiensis* на популяцию УПБ желудочно-кишечного тракта вызывает резкое усиление факторов персистенции и патогенности и приводит к развитию дисбактериоза. Изменение биологических свойств микроорганизмов, являющихся компонентами различных биотопов, к используемым δ -эндотоксинам *B. thuringiensis* - это риск, связанный с действием как трансгенных Vt-растений, так и биопестицидов, содержащих белки, обладающие бактерицидной активностью. Внедрение интенсивных технологий возделывания сельскохозяйственных культур неизбежно повлечет за собой дальнейшее расширение применения трансгенных Vt-растений и биопестицидов. Поэтому представляется весьма важным и актуальным дальнейшее изучение их действия на микробиоту различных биотопов теплокровных животных и человека и оценка возникающих возможных экологических и пищевых рисков.

Библиографический список

1. Анганова Елена Витальевна. Условно-патогенные энтеробактерии: доминирующие попу-

ляции, биологические свойства, медико-экологическая значимость: автореф. дис. ... д-ра биологических наук / Е.В. Анганова. - Иркутск. 2012. - 36 с.

2. Евдокимова, Н.В. Персистирующие клетки микроорганизмов / Н.В.Евдокимова, Т.В. Черненькая // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. - 2013. - Том 15, № 3. - С. 192-197.

3. Рябиченко, Е.В. Роль кишечной бактериальной аутофлоры и ее эндотоксина в патологии человека / Е.В. Рябиченко, В.М. Бондаренко // Микробиология. - 2007. - №3. - С. 103-111.

4. Габидуллин Юлай Зайнуллович. Особенности некоторых свойств, определяющих патогенный потенциал сокультивируемых вариаций бактерий *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *E.coli*, *Proteus*: дис. ... д-ра биологических наук / Ю. З. Габидуллин. - Уфа. 2014. - 274 с.

5. Макарова, М. А. Этиологическая значимость условно патогенных энтеробактерий при острых кишечных заболеваниях и дисбиотических состояниях кишечника / М. А. Макарова, Л. А. Кафтырева, С. А. Егорова // Инфекция и иммунитет. - 2011- № 2, том 1 - С.181-184.

6. Антибактериальная активность белков параспоральных кристаллов *Bacillus Thuringiensis* / Е.Г.Климентова, Т.Г.Юдина, Л.К.Каменек, Д.А.Васильев, Н.А.Феоктистова, Е.В.Рассадица // Вестник ветеринарии.- 2015.- № 2 (73). - С. 37-41.

7. Юдина Татьяна Георгиевна. Антимикробная активность и экологическая роль белковых включений бактерий - представителей родов *Bacillus*, *Xenorhabdus*, *Photorhabdus*: дис. ... д-ра биологических наук / Т.Г. Юдина - М., 2006. - 81 с.

8. Васильев, Д.А. Методы общей микробио-

логии / Д.А.Васильев, С.Н. Золотухин, Н.М. Никишина. - Ульяновск, 1998. – 180 с.

9. Золотухин, С.Н. Малоизученные энтеробактерии их роль в патологии животных / С.Н. Золотухин. - Ульяновск, 2004. -160 с.

10. Методы лабораторной диагностики патогенных энтеробактерий / С.Н. Золотухин, А.Ю. Кузнецов, О.В. Данилов, Д.А Васильев // Вопросы микробиологии, эпизоотологии и ветеринарно-санитарной экспертизы: сборник научных работ. - Ульяновск, 1998. - С. 87-93.

11. Бухарин, О.В. От персистенции к симбиозу микроорганизмов / О.В. Бухарин // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. - 2012. - №4. - С.4-9.

12. Климентова, Е.Г. Влияние дельта-эндо-

токсина *Bacillus Thuringiensis* на пленкообразующую активность и адгезивные свойства условно-патогенных бактерий / Е.Г.Климентова // Вестник Оренбургского государственного университета.-2013.-№ 6 (155).- С. 164-168.

13. Лабинская, А.С. Руководство по медицинской микробиологии. -Кн. 2 Частная медицинская микробиология и этиологическая диагностика инфекций / А.С. Лабинская.– М.: Медицина, 2012. – 338 с.

14. Карташова, О.Л. Регуляция персистентных свойств микроорганизмов факторами различной природы [Электронный ресурс] / О.Л.Карташова, Т.М. Уткина // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2013. – №1. – Режим доступа: <http://www.elmag.uran.ru>.

PHENOTYPICAL PATHOGENICITY PROPERTIES OF BACTERIA, OBTAINED FROM ANIMAL INTESTINES WITH EXPERIMENTAL DYSBACTERIOSIS, PRECIPITATED BY USAGE OF δ - ENDOTOXINS *BACILLUS THURINGIENSIS*

*Klimentova E.G.¹, Rassadina E.V.¹,
Feoktistova N. A.²
FSBEI HE "Ulyanovsk state university"¹,
Ulyanovsk, Lev Tolstoy st., 42
Tel.: 8(8422)272464, kloushel@mail.ru
FSBEI HE Ulyanovsk SAA²
432017, Ulyanovsk, Novyi Venets Bld, 1,
Tel.: 8(8422)559547, feokna@yandex.ru*

Key words: endotoxins BACILLUS THURINGIENSIS, microorganisms of intestine tract, pathogenicity of bacteria.

*Resistance of potentially pathogenic enterobacteria to microorganism protection factors and their ability to proliferate in vivo is determined by specific for the causative agent factors of pathogenicity and persistency. These properties can intensify, diminish or disappear under the influence of antibiotics, toxins and other factors, which may lead to pathological changes in bacterial biocenosis. Data of biological activity of parasporal crystal Cry-proteins of *B. thuringiensis* in relation to different microorganisms appeared a short time ago, so the study of the impact of these proteins is of current concern for in-depth understanding of their ecological role in intestine tract microbiocenosis of homoithermic animals, where toxic proteins can get along with the products. Identification of phenotypical pathogenicity properties of potentially pathogenic bacteria, obtained from animal intestines with experimental dysbacteriosis, precipitated by long-term usage of large doses of delta- endotoxins bacillus thuringiensis of CryIA u Cry2 types, was carried out in accordance with generally accepted methods. The research allowed to determine that occurrence and frequency of pathogenic and persistent activity of obtained from animals with experimental dysbacteriosis isolates of potentially pathogenic bacteria turned out to be significantly higher than those of strains, obtained from control group animals. Abrupt frequency increase of the above parametres in the groups of lactose-positive, as well as lactose negative hemolytic strains of *E. coli*, up to 100% level of antilysozyme and antiinterferon activity has been noticed. Thus, large doses of delta- endotoxins *B. thuringiensis* in the conditions in vivo led to abrupt increase of persistence and pathogenicity factors among strains of potentially pathogenic bacteria. Therefore, the change of microorganism biological properties is a potential risk, connected with application of transgenic Bt – plants, as well as biopesticides, which contain proteins with bacterial growth-inhibitory activity.*

Bibliography

1. Anganova Elena Vitalevna Potentially pathogenic enterobacteria: dominating populations, biological properties, medicine-ecological value: author's abstract of Doctor of Biology: specialty: 03.02.03 / E. V. Anganova. - Irkutsk. 2012. – 36 p.
2. Evdokimova, N.V. Persistent microorganism cells / N.V. Evdokimova, T.V. Chernenkaya // *Clinical microbiology and antibacterial chemical therapy.* – 2013. – Volume 15, № 3. – pp. 192-197.
3. Ryabichenko, E.V. The role of intestinal bacterial autoflora and its endotoxin in the pathology of people / E.V. Ryabichenko, V.M. Bondarenko // *Microbiology.* - 2007. - №3. - pp. 103-111.
4. Gabidullin Yulai Zainullovich. Peculiarities of some properties, which determine pathogenic potential of co-cultivated bacteria variations of *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Serratia*, *E.coli*, *Proteus*: dissertation of Doctor of Biology / Y.Z. Gabidullin. - Ufa. 2014. –274 p.
5. Makarova, M.A. Etiological significance of potentially pathogenic enterobacteria in case of acute intestinal diseases and dysbiotic conditions of intestines / M. A.Makarova, L. A. Kafyireva, S. A. Egorova // *Infections and immunity.*-2011- № 2, Volume 1 – pp.181-184.
6. Antibacterial activity of parasporal crystal proteins of *B. thuringiensis* / E.G.Klimentova, T.G. Yudina, L.K.Kamenek, D.A.Vasilev, N.A.Feoktistova, E.V.Rassadina // *Veterinary vestnik.*- 2015.- № 2 (73). - pp. 37-41.
7. Yudina, T.G. Antibacterial activity and ecological role of protein inclusions of bacterial, which are representatives of *Bacillus*, *Xenorhabdus*, *Photorhabdus* genus: dissertation of Doctor of Biology: specialty: 03.00.07 / T.G. Yudina - M., 2006. – 81 p.
8. Vasilev, D.A. Methods of common microbiology / D.A.Vasilev, S.N. Zolotukhin, N.M. Nikishina. - Ulyanovsk, 1998. – 180 p.
9. Zolotukhin, S.N. Understudied enterobacteria and their role in pathology of animals / S.N. Zolotukhin. - Ulyanovsk, 2004. -160 p.
10. Methods of laboratory diagnostics of pathogenic enterobacteria / S.N.Zolotukhin, A.Y.Kuznetsov, O.V.Danilov, D.A Vasilev // *Issues of microbiology, epizootology and veterinary and sanitary expertise: digest of scientific works.* – Ulyanovsk, 1998. - pp. 87-93.
11. Bukharin, O.V. From persistency to symbiosis of microorganisms / O.V. Bukharin // *Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology.* - 2012. - №4. - pp.4-9.
12. Klimentova, E.G. Influence of delta-endotoxin *Bacillus Thuringiensis* on film-forming activity and viscid properties of potentially pathogenic bacteria / E.G. Klimentova // *Vestnik of Orenburg state university.*-2013.-№ 6 (155).- pp. 164-168.
13. Labinskaya, A.S. Guidelines on medical microbiology. Book 2. Private medical microbiology and etiological diagnostics of infections / A.S. Labinskaya. – М.: *Medicine*, 2012. – p. 37
14. Kartashova, O.L. Regulation of persistent properties of microorganisms by means of factors of different nature [electronic resource] O.L.Kartashova, T.M. Utkina // *Bulletin of Orenburg centre of UD of RAC.* – 2013. – №1. – access mode: <http://www.elmag.uran.ru>.