

<https://doi.org/10.17116/molgen201937031122>

## Образование биопленки *in vitro* возбудителем респираторного микоплазмоза *Mycoplasma pneumoniae*

© О.И. БАРХАТОВА<sup>1</sup>, С.Г. АНДРЕЕВСКАЯ<sup>1</sup>, Н.В. АЛЕКСЕЕВА<sup>1</sup>, В.Г. ЖУХОВИЦКИЙ<sup>1,2</sup>, И.В. РАКОВСКАЯ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБУ «Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, Москва, Россия, 123098;

<sup>2</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский университет), Москва, Россия, 119991

### Резюме

Проведено изучение процесса образования биопленки штаммом *Mycoplasma pneumoniae* (Mp) Fh на абиотической поверхности методами световой и электронной микроскопии. Количественную оценку эффективности формирования биопленки проводили на полистироловых планшетах при окрашивании кристалл-виолетом. Для анализа ультраструктурной организации клеток Mp использовали метод сканирующей электронной микроскопии, который к 3-м суткам культивирования выявил хорошо сформировавшуюся многослойную, значительную по размеру, четко очерченную структуру, в которой клетки Mp были объединены внеклеточным матриксом с системой хорошо выявляемых пор. Морфология обнаруженных образований была полностью идентична структуре биопленок, описанных для других микроорганизмов, что подтверждает способность Mp к ее формированию. Описанный феномен — способность Mp расти в виде биопленки — имеет большое значение как в понимании причин длительной персистенции Mp в организме человека, так и в разработке новых подходов к методам лечения затяжных и хронических форм инфекционных процессов, вызванных Mp.

**Ключевые слова:** микоплазма, биопленка, сканирующая электронная микроскопия, персистенция.

### ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ:

Бархатова О.И. — e-mail: barhatova1902@gmail.com

Андреевская С.Г. — e-mail: hacaranda@yandex.ru

Алексеева Н.В. — e-mail: info@gamaleya.org

Жуховицкий В.Г. — e-mail: zhukhovitsky@rambler.ru

Раковская И.В. — e-mail: rakovskaya35@mail.ru

### АВТОР, ОТВЕТСТВЕННЫЙ ЗА ПЕРЕПИСКУ:

Раковская И.В. — e-mail: rakovskaya35@mail.ru

### КАК ЦИТИРОВАТЬ:

Бархатова О.И., Андреевская С.Г., Алексеева Н.В., Жуховицкий В.Г., Раковская И.В. Образование биопленки *in vitro* возбудителем респираторного микоплазмоза *Mycoplasma pneumoniae*. *Молекулярная генетика, микробиология и вирусология*. 2019;37(3):122-127. <https://doi.org/10.17116/molgen201937031122>

### СОКРАЩЕНИЯ:

Mp — *Mycoplasma pneumoniae*

Uu — *Ureaplasma urealyticum*

## Biofilm formation *in vitro* by *Mycoplasma pneumoniae* caused respiratory infection

© O.I. BARKHATOVA<sup>1</sup>, S.G. ANDREEVSKAYA<sup>1</sup>, N.V. ALEKSEVA<sup>1</sup>, V.G. ZHUKHOVITSKY<sup>1,2</sup>, I.V. RAKOVSKAYA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Research Centre for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academic N.F.Gamaleya" of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia, 123098

<sup>2</sup>Sechenov First Moscow Medical University, Moscow, Russia, 119991

### Abstract

The process of biofilm formation by *Mycoplasma pneumoniae* Fh on the abiotic surface by light and electron microscopy in dynamics was studied. Quantitative assessment of the effectiveness of biofilm formation were performed on polystyrene 96 well Cell Culture Clusters and staining with the crystal-Violet. For the analysis of the ultrastructural organization of Mp cells, the scanning electron microscopy method was used. To the third day of cultivation, it revealed a well-formed multilayer structure, significant in size, clearly delineated, in which Mp cells were combined with an extracellular matrix and a system of well-detected pores. The morphology of the detected formations was completely identical to the structure of biofilms described for other microorganisms, which confirms the ability of Mp to form it. The described phenomenon — the ability of Mp to grow as a biofilm — is of great importance both in understanding the causes of long-term persistence of Mp in the human body, and in developing new approaches to the treatment of protracted and chronic forms of infectious processes caused by Mp.

**Keywords:** *Mycoplasma*, biofilms, scan electronic microscopy, persistence.

## INFORMATION ABOUT AUTHORS:

Barkhatova O.I. — e-mail: barhatova1902@gmail.com  
 Andreevskaya S.G. — e-mail: hacaranda@yandex.ru  
 Alekseeva N.V. — info@gamaleya.org  
 Zhukhovitsky V.G. — e-mail: zhukhovitsky@rambler.ru  
 Rakovskaya I.V. — e-mail: rakovskaya35@mail.ru

## CORRESPONDING AUTHOR

Rakovskaya I.V. — e-mail: rakovskaya35@mail.ru

## ABBREVIATIONS:

*Mp* — *Mycoplasma pneumoniae*  
*Uu* — *Ureaplasma urealyticum*

## TO CITE THIS ARTICLE:

Barkhatova O.I., Andreevskaya S.G., Alekseeva N.V., Zhukhovitsky V.G., Rakovskaya I.V. Biofilm formation *in vitro* by *Mycoplasma pneumoniae* caused respiratory infection. *Molekulyarnaya Genetika, Mikrobiologiya i Virusologiya (Molecular Genetics, Microbiology and Virology)*. 2019;37(3): 122-127. (In Russ.). <https://doi.org/10.17116/molgen201937031122>

## Введение

Микоплазмы — мельчайшие бактерии, лишенные клеточной стенки и в силу малого размера генома, целого ряда ферментных систем способные инфицировать и длительно персистировать в организме человека и животных всех классов. Как им это удается? Известны разнообразные механизмы ускользания микоплазм от иммунологического надзора хозяина. Сравнительно недавно было показано, что существует еще один механизм, обеспечивающий микоплазмам, как и другим бактериям, возможность персистенции в организме хозяина — образование биопленки, где микроорганизм защищен гликокаликсом — полисахаридным слизистым слоем, состоящим из компонентов, которые могут быть как синтезированы самими бактериями, так и адсорбированы из среды обитания [1].

Интенсивное развитие современной молекулярно-биологической и электронно-микроскопической методической базы сформировало качественно новый уровень исследований, позволяющий анализировать развитие инфекционного процесса, используя непосредственно клинически доступные биоматериалы от больных. Нами ранее при анализе клинического материала, полученного непосредственно в ходе оперативного вмешательства от больных с мочекаменной болезнью, на наличие, состав и состояние микрофлоры с помощью стандартных микробиологических, молекулярно-генетических (полимеразная цепная реакция — ПЦР) и современных микроскопических методов было показано, что у пациентов с мочекаменной болезнью микроорганизмы способны существовать на поверхности мочевых камней в состоянии биопленок [2]. В ходе этих исследований был выявлен широкий спектр микроорганизмов, образующих сложные сообщества на мочевых камнях. При исследовании ультратонких срезов биопленок, полученных с поверхности почечных камней, в составе микробных сообществ были выявлены многочисленные полиморфные структуры (округлые, эллипсоидные, в виде коромысла), окруженные только асимметричной цитоплазматической мембраной, размером от 250 до 400 нм (для округлых форм) и до 800 нм (для извитых). Такая субмикроскопическая организация обнаруженных структур соответствует строению микоплазм.

Наряду с этим установлено, что многие виды микоплазм способны сами формировать биопленку. К таковым относятся *M. capricolum*, *M. putrefaciens*, *M. bovis*, *M. yeatsii*, *M. gallisepticum*, *M. pullorum*, *M. pulmonis*, *M. salivarium* и клинические изоляты *U. urealyticum* и *U. parvum* [3, 4].

Объектом нашего исследования явилась *M. pneumoniae* (*Mp*) — возбудитель респираторных заболеваний верхних дыхательных путей человека, бронхита, первичной атипичной пневмонии и осложненного течения бронхиальной астмы [5].

*Mp* обладает способностью активно передвигаться и наделена специальным образованием, которое служит для прикрепления микробной клетки к поверхности и одновременно является ее ведущей частью в процессе движения. Это образование, называемое терминальным («tip»), имеет полусферическую форму (80×125 нм) и содержит электронно-плотную осевую структуру с актиноподобным белком [6]. Колонии *Mp* адсорбируют на своей поверхности эритроциты млекопитающих и птиц, клетки культуры ткани (HeLa и др.) Для этого вида микоплазм характерна способность к цитадсорбции на клетках респираторного эпителия микроорганизмов [7].

Сорбционные свойства *Mp* определяют мембранные адгезины гликопротеиновой природы (P1, P2 и др.). Молекулы адгезинов связаны с цитоскелетом, могут направленно передвигаться по поверхности мембраны и концентрироваться в области структуры «tip», что является необходимым условием надежного прикрепления микоплазм. При изучении адгезии было показано, что популяция *Mp* состоит из клеток с различными адгезивными потенциалами. В процессе участвует лишь часть жизнеспособных клеток, хотя присутствие на поверхности микробных клеток адгезинов отмечают для всех клеток популяции. Предполагают, что это может быть связано с топографической организацией адгезинов, и, возможно, существует механизм, обеспечивающий их сборку и активацию [8].

При выращивании в жидкой питательной среде *Mp* обладает способностью прирастать к влажным твердым поверхностям культуральных сосудов из стекла и пластика, что впервые описано еще в 1967 г. [9, 10]. Механизм этого явления детально не изучен, однако считают, что, как и в случае адсорбции микоплазм на эпителиальных клетках,

он определяется мембранными адгезинами. Прикрепление к абиотическим поверхностям в дальнейшем ведет не только к расширению площади слоя микроорганизмов, но и к увеличению его плотности, причем колонии прирастают настолько прочно, что для их снятия требуется механическое воздействие.

Об образовании *Mr* биопленок опубликовано несколько работ. Так, в 2011 г. J. Kognspan и соавт. показали связь способности *Mr* расти на абиотических поверхностях с белком P1, так как этот процесс ингибировался анти-P1 поликлональными моноспецифическими антителами. Архитектоника суточной биопленки, сформированной на стекле, описана авторами по результатам сканирующей микроскопии как отдельные «вулканоподобные» структуры, образованные клетками микоплазм, объединенными слоем экзоклеточного матрикса [11].

W. Simmons и соавт. считают, что значительную роль в образовании биопленки *Mr* играют полисахариды, которые, по общему представлению, составляют часть экзоклеточного матрикса, а обогащение питательной среды каталазой способствует процессу биопленкообразования [12, 13].

Однако для понимания поведения *Mr* в организме человека и особенностей течения вызываемого ею инфекционного процесса, а также для разработки рациональных методов лечения респираторного микоплазмоза необходимо создание экспериментальной лабораторной модели образования биопленок.

Цель нашей работы — выявление ультраструктурных особенностей образуемой клетками *Mr* биопленки в динамике.

## Материал и методы

В работе использовали культуры *Mycoplasma pneumoniae* Fh, *Ureaplasma urealyticum* (Uu) из коллекции Лаборатории микоплазм и Л-форм бактерий ФГБУ «НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России.

Культуры микроорганизмов выращивали в стеклянных флаконах с жидкой питательной средой и на чашках Петри с 1,3% агаром. Для выращивания культуры использовали коммерческие питательные среды Difco PPLO бульон и агар («Becton, Dickinson and Company», США) с добавлением 20% нормальной сыворотки крови лошади, 1000 ед/мл пенициллина, 1% глюкозы (для *Mr*) и 1% мочевины (для *Uu*).

Так как популяция *Mr* неоднородна по способности расти на абиотической поверхности, проводили селекцию клеток, стабильно растущих на стекле. Для этого сначала делали первичный засев концентрированной взвеси культуры ( $1 \times 10^7$ — $1 \times 10^8$  КОЕ/мл), полученной путем смыва колоний, выращенных на агаре, в стеклянный флакон с 100—150 мл бульонной среды. После инкубации флаконов при 37 °С в течение 2—3 дней полученную пленку роста на стеклянной поверхности пассировали 2—3 раза «со стекла на стекло», что давало возможность получить культуру, стабильно растущую на стеклянной поверхности.

Для оценки эффективности формирования пленки *Mr* на твердой поверхности использовали полистироловые микротитровальные 96-луночные планшеты (фирмы «Costar», США). В лунки планшетов вносили жидкую питательную среду, инокулированную исследуемым микроорганизмом в объеме 150 мкл в разведении 1:10, далее планшет инкубировали при 37 °С в течение 2 и 3 дней. После инкубации из лунок удаляли питательную среду вместе с планктонны-

ми клетками микроорганизма и однократно промывали физиологическим раствором. Выросшую в лунках биопленку окрашивали 0,01% спиртовым раствором кристалл-виолета, в течение 45 мин при комнатной температуре. К пленке в лунках планшета добавляли по 200 мкл 96° этилового спирта и оставляли их при комнатной температуре на 45 мин для экстрагирования красителя спиртом. Оптическую плотность окрашенного спирта измеряли на фотометре IEMS, ReaderMF («Labsystems» Швеция) при длине волны 540 нм. Результаты обрабатывали с помощью специальной компьютерной программы [14].

Для изучения ультраструктурной организации биопленки, формируемой *Mr* при росте на стекле, использовали метод сканирующей электронной микроскопии. *Mr* выращивали на поверхности покровных стекол, помещенных в пробирки с инокулированной микоплазмой жидкой питательной средой. После инкубации пробирок при 37 °С в течение 1, 2 или 3 сут покровные стекла с выросшим на них слоем биопленки культуры извлекали из пробирок и фиксировали 10% раствором формалина.

С целью сохранения естественной структуры биопленки, экзоклеточный матрикс которой является ее морфологической и функциональной составляющей, препараты не подвергались сушке в критической точке, что выгодно отличает методику нашего исследования от ранее использованных [11]. Стекла были высушены при комнатной температуре, на их поверхность напылено золото толщиной слоя 5 нм. В ходе работы было использовано следующее оборудование: двулучевой ионно-электронный сканирующий микроскоп Quanta 200 3D («FEI Company», США); модуль для напыления SPI-MODULE Sputter Coater («SPI Supplies», США). Исследование проводилось в условиях высокого вакуума, при ускоряющем напряжении 5,0—10,0 кВ. Рабочие увеличения от  $\times 300$  до  $\times 40\,000$ .

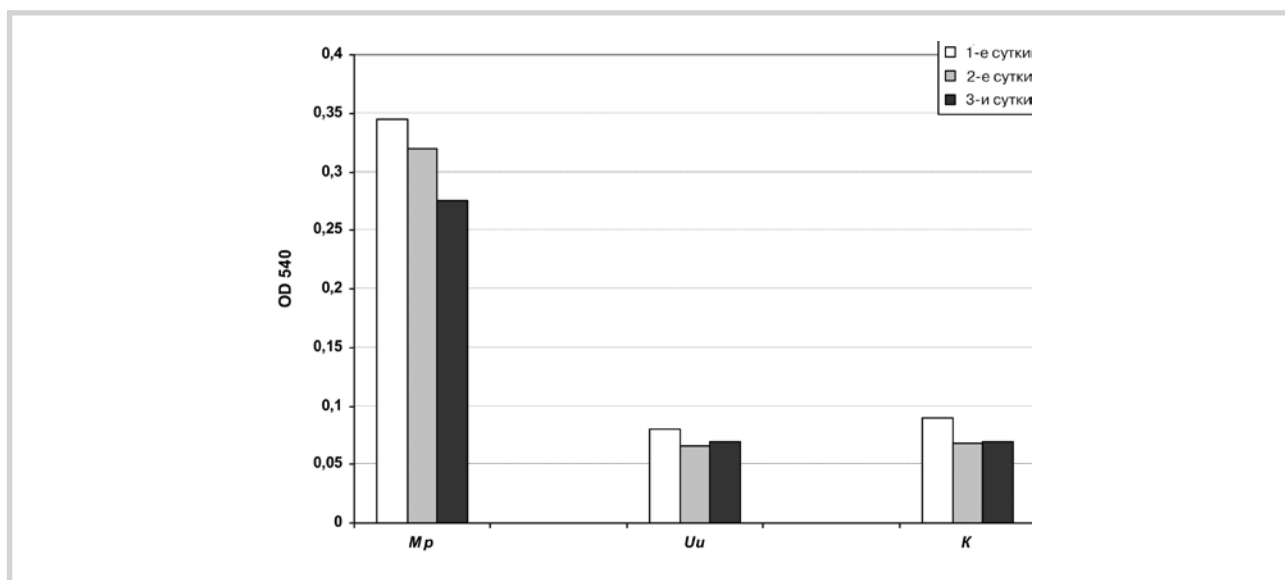
## Результаты и обсуждение

Данные количественной оценки интенсивности формирования пленки роста *Mr* в лунках полистироловых планшетов представлены на рис. 1. Наибольшую интенсивность роста *Mr* наблюдали на 2-й день инкубации. На 3-й день отмечали некоторое снижение плотности пленки, что, возможно, связано с отрывом фрагментов слоя микроорганизмов в результате гибели части популяции в связи с закислением питательной среды в процессе роста культуры. Кроме того, это может быть связано с выходом части микроорганизмов из пленки в жидкую среду в результате гидролиза гликокаликса, как это было описано рядом авторов для других культур [15, 16].

В отличие от *Mr Uu* не растут на абиотических поверхностях, что хорошо видно из рис. 1, так как оптическая плотность содержимого в опытных лунках практически идентична плотности чистой питательной среды контрольных лунок.

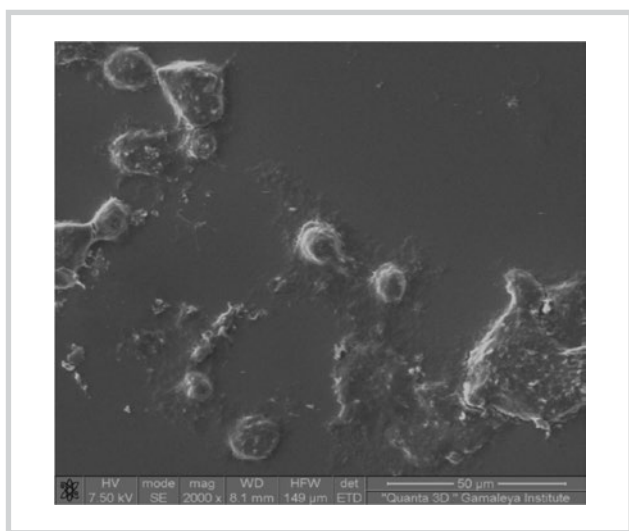
Результаты, полученные при выращивании *Mr* на планшетах, могут свидетельствовать лишь о самом факте образования этой микоплазмой биопленки, но не дают возможности проследить динамику этого процесса. Очень малый объем среды и довольно активный контакт с атмосферой вызывают быстрое закисление среды, приводящее к гибели микроорганизмов и отторжению пленки.

Динамика формирования биопленки была оценена методом сканирующей электронной микроскопии. Для этого культуры выращивали в закрытых стеклянных пробирках с 5 мл питательной среды. Эти условия обеспечили мак-



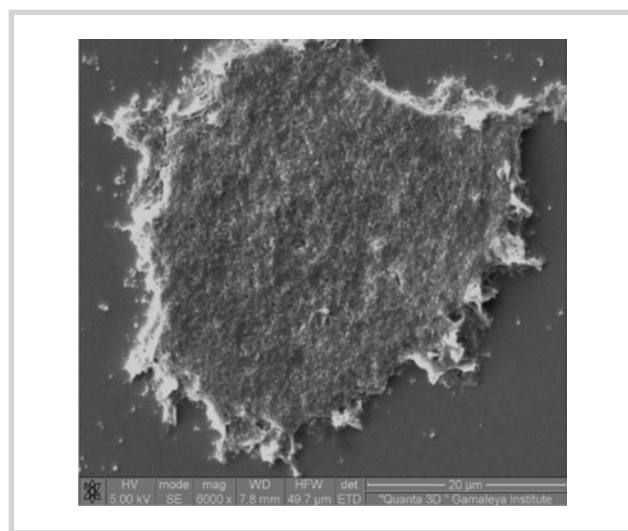
**Рис. 1.** Оценка способности представителей семейства *Mycoplasmataceae* формировать биопленку на полистироловой поверхности.

По оси ординат — оптическая плотность (OD) раствора экстрагированного красителя; по оси абсцисс — гистограмма исследованных культур в зависимости от времени инкубации.



**Рис. 2.** Электронная микрофотография.

Ограниченные участки плотных скоплений *Mp* на фоне свободной от микроорганизмов площади покровного стекла. 2-е сутки культивирования. Ув. 2000.



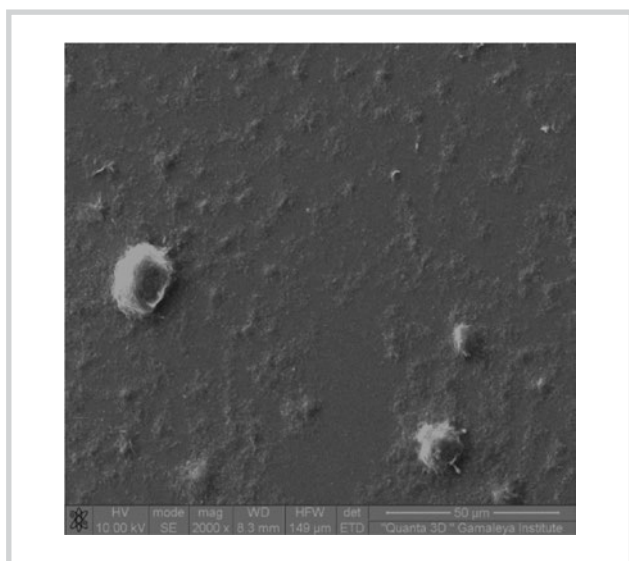
**Рис. 3.** Электронная микрофотография.

Многослойное скопление микробных клеток сферической формы, объединенных гомогенным веществом средней электронной плотности (внеклеточным матриксом). 2-е сутки культивирования. Ув. 6000.

симальное распространение биопленки по поверхности стекла через 3 сут от начала культивирования.

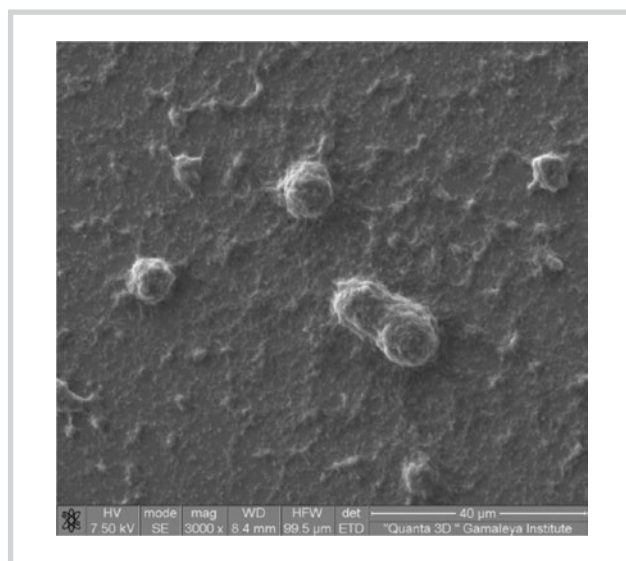
С помощью сканирующей электронной микроскопии было показано, что через 24 ч культивирования препарат представлял собой адгезированные на стекле конгломераты клеток инокулята, различные по размеру и форме, с четкими неровными краями (рис. 2). Микроскопически они представляли собой массивные, толщиной в несколько микробных клеток, скопления бактерий. Микроорганизмы в них были объединены выраженным слоем внеклеточного матрикса,

представленного гомогенным веществом средней электронной плотности. На поверхности скоплений определялись многочисленные отверстия по типу пор (см. рис. 2). Перечисленные морфологические признаки соответствуют ультраструктуре биопленок. Размер отдельных микробных клеток сферической формы в среднем составлял 300 нм. Часть биопленок была окружена тонким слоем клеток микоплазм, также покрытых внеклеточным матриксом. Между описанными скоплениями микоплазм сохранялись значительные по площади промежутки, свободные от них (рис. 3).



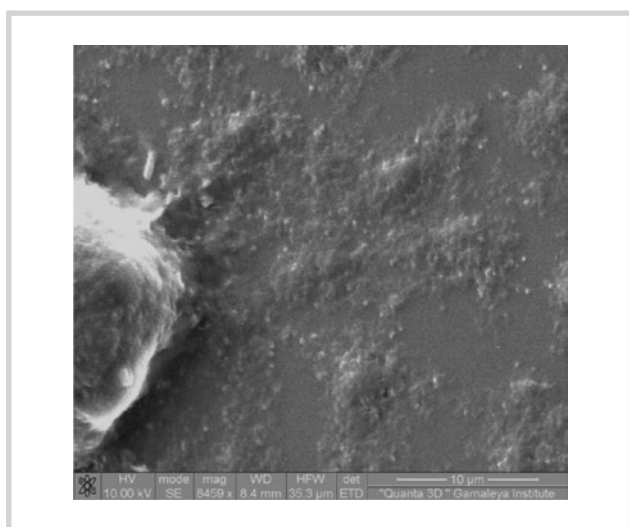
**Рис. 4. Электронная микрофотография.**

Распространение био пленки по площади стекла. 3-и сутки культивирования. Ув. 2000.



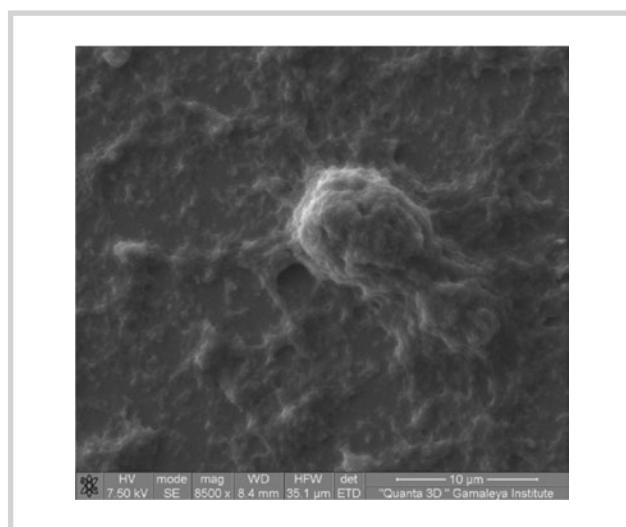
**Рис. 6. Электронная микрофотография.**

Сплошной слой био пленки различной толщины. 4-е сутки культивирования. Ув. 3000.



**Рис. 5. Электронная микрофотография.**

Скопления бактериальных клеток сферической формы, объединенных слоем внеклеточного матрикса. 3-и сутки культивирования. Ув. 8500.



**Рис. 7. Электронная микрофотография.**

Структура био пленки: скопления клеток *Mr*, покрытых внеклеточным матриксом. 4-е сутки культивирования. Ув. 8500.

Через 48 ч наблюдения в препарате по-прежнему регистрировались массивные ограниченные многослойные скопления бактериальных клеток, покрытые внеклеточным матриксом. Вокруг них, а также по большей части площади стекла распространялся тонкий слой био пленки (рис. 4). Микробные клетки сферической формы в их составе имели размер от 200 до 450 нм (рис. 5). На свободных от био пленок участках стекла выявлялись отдельные бактерии в незначительном количестве.

Препарат последнего срока наблюдения представлял собой стекло, полностью покрытое био пленкой разной толщины (рис. 6). Отдельные бактериальные клетки контурировались нечетко из-за слоя внеклеточного матрикса, покрывающего их (рис. 7). Таким образом, за период наблю-

дения площадь био пленки значительно расширилась, распространившись по всей поверхности стекла.

Данное исследование позволило проследить структурные преобразования, связанные с динамикой формирования на стекле непрерывного слоя бактериальной культуры микоплазм. Особенности ультраструктуры этого слоя, такие как плотные скопления микробных клеток, многоуровневая их организация, наличие слоя внеклеточного средней электронной плотности гомогенного вещества с характерными отверстиями по типу пор, подтверждают морфологическую идентичность его бактериальным био пленкам, описанным ранее при изучении других микроорганизмов [17, 18].

Сорбционные свойства *Mr* как *in vivo*, так и *in vitro* связывают с мембранными адгезинами гликопротеиновой

природы, поэтому вполне логично предположить, что *Mr* может расти в виде биопленки и на эпителиальных клетках респираторного тракта человека.

Многими исследователями показано, что биопленка может обеспечить микроорганизмам защиту от клеточных антибактериальных (фагоцитов) и гуморальных (антител и белков системы комплемента) факторов. Бактерии, находясь в составе биопленки, становятся устойчивыми к действию антибактериальных препаратов, в том числе антибиотиков [19, 20].

Для микоплазмоза, вызываемого *Mr*, характерны генерализация инфекционного процесса, о чем свидетельствуют разнообразные внелегочные проявления (поражение кроветворной системы, сердца, печени, центральной нервной системы, кожи и др.), и длительная персистенция возбудителя в организме человека, предположительно в составе биопленки [21].

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Daubenspeck JM, Jordan DS, Dybvig K. *Mollicutes: Molecular biology and pathogenesis*. Eds. Browning G. Ch Citti Norfolk: Caister Academic Press; 2014;131-147.
- Romanova YuM, Mulabaev NS, Tolordava ER, Seregin AV, Seregin IV, Alexeeva NV, Stepanova TV, Levina GA, Barkhatova OI, Gamova NA, Goncharova SA, Didenko LV, Rakovskaya IV. Microbial Communities on Kidney Stones. *Molecular Genetics, Microbiology and Virology*. 2015;30(3):78-84.
- Mc Auliffe L. *Mollicutes: Molecular biology and pathogenesis*. Eds Browning G. Ch Citti Norfolk: Caister Academic Press; 2014;1:255-272.
- Garcia-Castillo M, Morosini MI, Galvez M, Baquero F, del Campo R, Meseguer MA. Differences in biofilm development and antibiotic susceptibility among clinical *Ureaplasma urealyticum* and *Ureaplasma parvum* isolates. *J Antimicrob Chemother*. 2008;62(5):1027-1030.
- Горина Л.Г., Крылова Н.А., Гончарова С.А., Раковская И.В., Бархатова О.И. Роль микоплазменной инфекции при обострении бронхиальной астмы у детей. *Инфекционные болезни*. 2018;16(2):16-21.
- Gorina LG, Krylova NA, Goncharova SA, Rakovskaya IV, Barkhatova OI. Role of *Mycoplasma infection* in acute bronchial asthma in children. *Infection diseases*. 2018;16(2):16-21. (In Russ.).
- Bredt W. *The mycoplasmas*. 1979;1:141-156.
- Sobeslavsky O, Prescott B, Chanock RM. Absorption of *Mycoplasma pneumoniae* to neuraminic acid receptors of various cells and possible role in virulence. *J Bact*. 1968;96:695-705.
- Kahane I. In vitro studies on the mechanism of adherence and pathogenicity of mycoplasmas. *Isr J Med Sci*. 1984;20:874-877.
- Somerson NJ, James WD, Walls BE, Chanock RM. Growth of *Mycoplasma pneumoniae* on a glass surface. *Ann NY Acad Sci*. 1967;143:384-389.
- Bredt W. Growth morphology of *Mycoplasma pneumoniae* strain Fh on glass surface. *Proc Soc Exptl Biol Med*. 1968;128(2):338-392.
- Kornspan JD, Tarshis M, Rottem S. Adhesion and biofilm of *Mycoplasma pneumoniae* on an abiotic surface. *Arch Microbiol*. 2011;193(11):833-836.
- Simmons WL, Daubenspeck JM, Osborne JD, Balish MF, Waites KB, Dybvig K. Type 1 and type 2 strains of *Mycoplasma pneumoniae* form different biofilms. *Microbiology*. 2013;159:737-747.
- Simmons WL, Dybvig K. Catalase Enhances Growth and Biofilm Production of *Mycoplasma pneumoniae*. *Curr Microbiol*. 2015;71(2):190-194.
- Навольнев С.О., Степанова Т.В., Навольнева О.С., Романова Ю.М. Разработка компьютерной программы для оценки структурных свойств сообществ микроорганизмов (биопленок). *Медицинский алфавит. Лаборатория*. 2009;17:28-30.
- Navolnev SO, Stepanova TV, Navolneva OS, Romanova YuM. Development of a computer program to assess the structural properties of microorganisms (biofilms). *Meditsinsky alfavit. Laboratoriya*. 2009;17:28-30. (In Russ.).
- Сафронова И.Ю., Ботвинко И.В. Межклеточный матрикс *Bacillus subtilis* 271: полимерный состав и функции. *Микробиология*. 1998;67(1):55-60.
- Safronova IYu, Botvinko IV. Intercellular matrix of *Bacillus subtilis* 271: composition and functions. *Microbiology*. 1998;67(1):55-60.
- Романова Ю.М., Алексеева Н.В., Смирнова Т.А., Андреев А.Л., Диденко Л.В., Гинцбург А.Л. Способность к формированию биопленок в искусственных системах у различных штаммов *Salmonella typhimurium*. *ЖМЭИ*. 2006;4:38-42.
- Romanova YuM, Alexeeva NV, Smirnova TA, Andreev AL, Didenko LV, Gintsburg AL. Biofilmformation by different strains of *Salmonella typhimurium* in artificial systems. *Zhurnal mikrobiologii epidemiologii, immunobiologii*. 2006;4:38-42. (In Russ.).
- Смирнова Т.А., Диденко Л.В., Тиганова И.Г., Андреевская С.Г., Алексеева Н.В., Степанова Т.В., Романова Ю.М. Изучение строения биопленок, образуемых бактериями *Salmonella typhimurium* на абиотических поверхностях, методами световой и трансмиссионной электронной микроскопии. *Биотехнология*. 2009;5:16-23.
- Smirnova TA, Didenko LV, Tiganova IG, Andreevskaya SG, Alekseeva NV, Stepanova TV, Romanova YuM. Study on the structure of biofilms formed by *Salmonella typhimurium* on abiotic surfaces by the methods of light and transmission electron microscopy. *Biotechnologia*. 2009;5:16-23. (In Russ.).
- Смирнова Т.А., Диденко Л.В., Азизбекян Р.Р., Романова Ю.М. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок. *Микробиология*. 2010;79:4:435-446.
- Smirnova TA, Didenko LV, Azizbekyan RR, Romanova YuM. Structural and functional characteristics of bacterial biofilm. *Microbiology*. 2010;79:4:435-446.
- Сидоренко С.В. Роль бактериальных биопленок в патологии человека. *Инфекции в хирургии*. 2004;2:16-20.
- Sidorenko SV. The role of bacterial biofilms of human pathology. *Infectii v hirurgii*. 2004;2:16-20. (In Russ.).
- Алексеева Н.В., Степанова Т.В., Толордава Э.Р., Романова Ю.М. Разработка средств борьбы с биопленками: влияние препарата «Лапрот» (на основе человеческого лактоферона) и антибиотика ципрофлоксацина на рост и процесс образования биопленок бактериями *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. *Медицинский алфавит. Лаборатория*. 2010;3:4-9.
- Alekseeva NV, Stepanova TV, Tolordava ER, Romanova YuM. Development of biofilm control agents. *Meditsinsky alfavit. Laboratoriya*. 2010;3:4-9. (In Russ.).
- Борхсениус С.Н., Чернова О.А., Чернов В.М., Вишняков И.Е. *Микоплазмы в биологии и медицине начала XXI века*. СПб.: Наука; 2016.
- Borchsenius SN, Chernova OA, Chernov VM, Vishnyakov IE. *Mycoplasmas in biology and medicine in the beginning of 21 century*. SPb.: Science; 2016. (In Russ.).

Поступила в редакцию 15.02.19

Received 15.02.19

После доработки 01.03.19

Revised 01.03.19

Принята к публикации 15.04.19

Accepted 15.04.19