

Тажиббаев Э.К., Шаршеналиева Г.А., Садыкова Г.С.

HELICOBACTER PYLORI БАКТЕРИЯСЫНЫН ТАБИГЫЙ ТАЗА СУУ ЧӨЙРӨСҮНДӨ БАЙЫР АЛЫП ТИРҮҮ КАЛУУ ЖӨНДӨМДҮҮЛҮГҮ

Тажиббаев Э.К., Шаршеналиева Г.А., Садыкова Г.С.

ВЫЖИВАНИЕ *HELICOBACTER PYLORI* В ЕСТЕСТВЕННОЙ ПРЕСНОЙ ВОДЕ

E.K. Tazhibayev, G.A. Sharshenalieva, G.S. Sadykova

THE SURVIVAL OF *HELICOBACTER PYLORI* IN NATURAL FRESH WATER

УДК: 576.809.516

Ашказандагы жаралардын көпчүлүгүнүн козгогучу *Helicobacter pylori*нин жугуу жолу белгисиз бойдон калууда. Эпидемиологиялык далилдерге караганда, бул организмдер суу менен жугат; бирок *H. pylori* потенциалдуу суу булактарынан сейрек өстүрүлөт. Бул организмдин жашоочу, бирок өстүрүлбөгөн (ЖБӨ) абалына тез кирүү жөндөмүнө байланыштуу болушу мүмкүн. Биздин изилдөөбүздө *H. pylori* лабораториялык өсүмдүктөрдө жана табигый таза суунун чөйрөсүндө ушул абалга келип түшкөндүгү, ошондой эле морфология менен культивациянын өз ара байланышы каралат. Лабораторияда дагы, айлана-чөйрөдө дагы үлгүлөрдү өстүрүү үчүн пластинкалардын санын эсептөө менен талдап, ТИРҮҮ / ӨЛҮК арткы жарыктын анализин колдонуп, алардын жашоо жөндөмүн жана морфологиялык параметрлерин аныкташты. Лабораторияда жана агын сууда *H. pylori* культивацияны жоготкону аныкталды, бирок жашоо жөндөмдүүлүгү сакталды. Бул изилдөөлөрдүн натыйжалары *H. pylori* лабораториялык өсүмдүктөрдө жана айлана-чөйрөдө ЖБӨ абалында сакталарын жана ушул абалдагы клеткалардын коомдук ден-соолукка кооптуу экендигин көрсөтөт.

Негизги сөздөр: таза суу, табигый чөйрө, жашоо, өстүрүү, анализ, изилдөөлөр, натыйжалар.

Способ передачи *Helicobacter pylori*, возбудителя большинства язв желудка, остаётся неопределённым. Эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что эти организмы передаются через воду; однако *H. pylori* редко выращивается из потенциальных водных источников. Это может быть связано со способностью этого организма быстро войти в жизнеспособное, но не культивируемое (ЖННК) состояние. Наше исследование изучает вход *H. pylori* в это состояние в лабораторных культурах и естественной пресноводной среде, а также взаимосвязь между морфологией и культивируемостью. Как в лаборатории, так и в окружающей среде пробы анализировались на предмет их культивируемости с помощью подсчёта количества пластин и окрашивались с помощью анализа ЖИВОЙ

/МЁРТВЫЙ подсветки для определения их жизнеспособности и морфологических параметров. Было обнаружено, что *H. pylori* теряет культивацию в лаборатории и в потоке, хотя жизнеспособность была сохранена. Результаты этих исследований позволяют предположить, что *H. pylori* сохраняется в лабораторных культурах и окружающей среде в состоянии ЖННК и что клетки в этом состоянии представляют опасность для здоровья населения.

Ключевые слова: чистая вода, природная среда, жизнь, выращивание, анализ, исследования, результаты.

The mode of transmission of *Helicobacter pylori*, the causative agent of most stomach ulcers, remains uncertain. Epidemiological data indicate that these organisms are transmitted through water; however, *H. pylori* is rarely grown from potential water sources. This may be due to the ability of this organism to quickly enter a viable but not culturable state (VBNC). Our study is studying the entry of *H. pylori* into this state in laboratory crops and natural freshwater environments, as well as the relationship between morphology and culturability. Both in the laboratory and in the environment, samples were analyzed for their culturability by counting the number of wafers and colored by the LIVE/DEAD light to determine their viability and morphological parameters. *H. pylori* was found to be losing its cultivation in the laboratory and in the flow, although viability was maintained. The results of these studies suggest that *H. pylori* is preserved in laboratory cultures and the environment in a state of VBNC and that cells in this state pose a public health hazard.

Key words: clean water, natural environment, life, cultivation, analysis, research, results.

Инфекция грамотрицательным микроаэрофильным палочкообразным *Helicobacter pylori* связана с развитием хронического гастрита человека, язвенной болезни желудка и аденокарциномы желудка [2,5,26]. По оценкам, более половины населения мира инфицировано этим микроорганизмом [18]. Несмотря на столь высокую распространённость инфекции,

резервуар бактерии и способ её передачи остаются неопределёнными. Молекулярные методы выявили наличие ДНК *H. pylori* в речной, колодезной и сточной воде, а также в поверхностных и мелководных подземных водах, что позволяет предположить, что этот организм передаётся водным путём и может передаваться по фекально-оральному пути [12,14,22]. Однако было опубликовано только одно исследование, в котором утверждается, что изоляция *H. pylori* непосредственно от источников окружающей среды была осуществлена и что изоляция произошла только после иммуномагнитного отделения клеток от необработанных сточных вод [20].

Было высказано предположение, что невозможность культивирования *H. pylori* из окружающей среды обусловлена его вступлением в жизнеспособное, но не культивируемое (ЖННК) состояние. Клетки, вошедшие в это состояние, больше не культивируются на обычных бактериологических средах, хотя они остаются жизнеспособными [25]. Вход бактерии в состояние ЖННК вызывается различными неблагоприятными условиями, такими как понижение температуры или истощение питательных веществ [25]. Вход *H. pylori* в состояние ЖННК был впервые предложен во время лабораторных исследований Шахамата и др. [29], в которых клетки были замечены, чтобы стать некультивируемыми в пресноводных микроорганизмах. Свидетельства о вступлении в состояние ЖННК были подтверждены авторадиграфическим обнаружением метаболической активности в некультивируемых клетках [30].

Было отмечено, что многие виды бактерий изменяют свою морфологию при входе в состояние ЖННК. Было показано, что при входе в состояние ЖННК клетки *Vibrio vulnificus* переходят от изогнутых бацилл к коккам [24]. Катренич и Макин [6], а также Бенисия и др. [3] наблюдали, что *H. pylori* подвергаются такому же морфологическому превращению, как и клетки, состаренные в бульоне, с переходом клеток из спиральных стержней в формы "О" или "U", а затем в формы "кокки". Одновременно наблюдалось снижение культивируемости. Однако не исключено, что кокковидная форма *H. pylori* является морфологией ЖННК. Это подтверждается тем, что в культурах *H. pylori*, содержащих 90% кокковидных клеток и 10% спиральных клеток, наблюдалось лишь 1,8-кратное снижение дыхательной активности по сравнению с культурами, содержащими 95% спиральных клеток и 5% кокков [9].

Если коккообразная форма этой бактерии находится в состоянии ЖННК, то она может быть

способна установить инфекцию в организме хозяина, как это было предложено как Челлини и др. Эти данные указывают на то, что ЖННК-формы *H. pylori* могут быть инфекционными, поэтому роль ЖННК-состояния в этом организме имеет важные последствия в эпидемиологии и профилактике заболеваний. Мы исследовали способность *H. pylori* вступать в состояние ЖННК как в лабораторных условиях, так и в естественной пресноводной среде. В последнем случае были также изучены параметры окружающей среды, которые могут влиять на потерю культивируемости.

Материалы и методы исследования. Бактериальные штаммы и условия культуры. Для рутинной культуры *H. pylori* в колбах для культуры вентилируемых тканей выращивали в пробирке бруцеллы, содержащей 5% эмбриональной сыворотки телёнка, 10 мг ванкомицина/литр, 5 мг триметоприма/литр, и 2500 МЕ полимиксина В/литр. Клетки поддерживали на агаре крови бруцеллы, содержащем 5% эритроцитов овец и те же антибиотики. Во всех случаях клетки инкубировали при температуре 37°C в условиях 100%-ной влажности и 5%-ной атмосферы CO₂. Для лабораторных исследований клетки *H. pylori* выращивали в течение 18 часов в бульоне и разбавляли 1:100 в свежей жидкой среде. Пробы отбирали через определённые промежутки времени, определяли оптическую плотность при 550нм, культивируемость, жизнеспособность и морфологическое распределение.

Мембранные диффузионные камеры. Воду собирали из ручья, фильтровали через фильтр размером 0,2 м и впоследствии подвергали автоклавной очистке. Культуры были разбавлены в этой стерильной воде ручья таким образом, что конечная концентрация составляла от 105 до 106 КОЕ/мл. Аликвоты [25 мл] использовались для заполнения 30 мл стерильных мембранных диффузионных камер, которые были оснащены поликарбонатными фильтрами диаметром 76 мм и размером 0,2 м. Камеры подвешивались к плавучему устройству и закреплялись в потоке на глубине около 0,3 м. Отбор проб проводился путём удаления одной или двух камер в каждой точке времени и изучения ячеек внутри. Ни в коем случае время от взятия пробы до анализа не превышало 30 мин.

Культивируемость клеток. Суспензии клеток из мембранных диффузионных камер серийно разбавляли в стерильной ручьевой воде и наносили на бруцеллы кровяного агара. Клетки считались некультивируемыми при обнаружении 10 КОЕ/мл. Обнаруженные колонии были подтверждены как *H. pylori*

путем прививки к наклонам мочевиного агара и исследованы на предмет производства уреазы.

Целесообразность и морфологическое определение. Жизнеспособность и морфологию определяли по окрашивающим клеткам с набором бактериальной жизнеспособности ЖИВОЙ/МЁРТВЫЙ подсветки в соответствии с указаниями производителя. Вкратце, этот набор использует SYTO 9 и йодид пропидия для дифференцировки клеток с неповреждёнными (живые организмы) и скомпрометированными (мёртвые организмы) мембранами. Образцы подсветки были отфильтрованы на чёрные поликарбонатные фильтры размером 0,2 м при слабом освещении. Клетки просматривались с помощью эпифлуоресцентного микроскопа (модель Олимпа BX51) с соответствующим фильтрующим кубом, при этом во всех случаях подсчитывалось не менее 30 полей или 300 клеток. Изображения были получены с помощью камеры Spot-CAM и соответствующего программного обеспечения.

Условия реанимации. Клетки ЖННК, удаленные из экологических камер, были наложены на агар крови с 200 U каталазы или были подвергнуты тепловому шоку и были покрыты бруцелловым агаром крови.

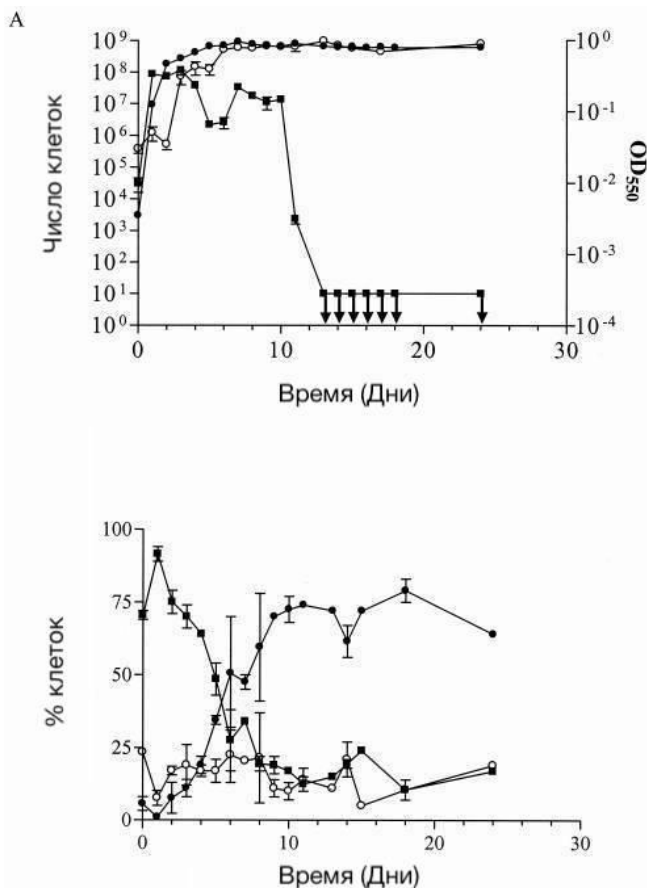
Статистический анализ. Линейная регрессия была выполнена с помощью программного обеспечения Prism 2.01 для определения статистически значимых изменений морфологического распределения в пределах отдельных периодов выборки. Данные об экологических параметрах были построены и преобразованы в журнал для достижения нормальности. Была проведена ранговая корреляция коэффициентов Спирмена [32] для определения корреляции каких-либо параметров окружающей среды с изменением продолжительности культивирования клеток в окружающей среде. За этим следовала последовательная корректировка Бонферрони [27]. Кроме того, был проведён стандартизированный многократный регрессионный анализ для определения того, являются ли какие-либо параметры окружающей среды причиной вариаций в культивируемости клеток в окружающей среде. Статистические испытания параметров окружающей среды проводились с использованием программного обеспечения 8.2.

Результаты и обсуждение исследования. Несмотря на то, что в центре внимания многих исследований *H. pylori* находились вопросы культивации, ни в одном из них не рассматривались вопросы культивации в потенциальном природном водоёме, например, в пресноводной среде. Кроме того, не сообщалось

о каких-либо исследованиях, в которых проводилось бы различие между потенциальной пригодностью и жизнеспособностью той или иной популяции. С помощью анализа жизнеспособности ЖИВОЙ/МЁРТВЫЙ подсветки были изучены их пригодность и жизнеспособность в ячейках, инкубированных как в лабораторных условиях, так и в естественном пресноводном водоёме. Хотя использование многократного анализа жизнеспособности предпочтительно (см., например, ссылку 19), другие исследованные нами анализы, такие как 5-циано-2,3-дитолилтетразолий-хлорид (СТС) анализа Родригеса и др. [28] и анализа чувствительности субстрата Когуре и др. [16], не показали хороших результатов при применении к *H. pylori*. Тем не менее, Булос и др. сообщили, что количество жизнеспособных бактерий подсветки сопоставимо с количеством бактерий, присутствующих в питьевой воде, полученных с помощью СТС-анализа. Тем не менее, жизнеспособные подсчёты, определённые с использованием пятна подсветки в клетках, подвергшихся стрессу от хлора, по сообщениям, были выше, чем те, которые наблюдались при анализе ЦТК. Авторы признают, что гранулы формазана СТС были очень малы в клетках, подвергшихся стрессу, что указывает на различия в пятнах. Далее - более того, обратная транскрипция-ПЦР стала общепринятым методом определения жизнеспособности клеток, так как период полураспада бактериальной мРНК составляет порядка минут [10]. Наши исследования *H. pylori* в окружающей среде позволяют предположить, что в дополнение к получению положительных результатов при анализе подсветки клетки ЖННК продолжают транскрибировать несколько генов, в том числе и те, которые, как известно, являются детерминантами вирулентности (неопубликованные данные).

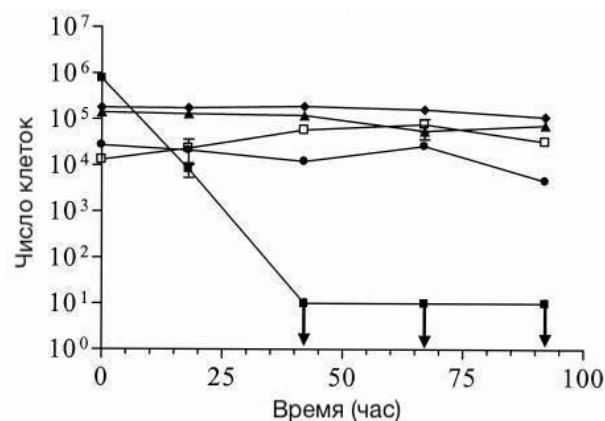
В наших лабораторных исследованиях было обнаружено, что культивируемость клеток снижается до 10 КОЕ/мл после са. через 10 дней, хотя большая популяция жизнеспособных клеток продолжала присутствовать (рис. 1А). Это свидетельствует о том, что в жидкой культуре в лаборатории *H. pylori* переходит в состояние ЖННК с возрастом клеток. Эти результаты, показывающие потерю культивационности и морфологические превращения, согласуются с данными, опубликованными Бенисия и др. [3] и Катренич и Макин [6] для *H. pylori* и Alonso и др. [1] для клеток *Campylobacter coli*. Тем не менее, наше исследование является первым, которое показывает, что жизнеспособность сохраняется в *H. pylori*, несмотря на эту потерю культивируемости. Помимо сохранения жизне-

способности, клетки также поддерживали постоянную оптическую плотность (рис. 1А), что указывает на то, что лизис клетки не наступил.



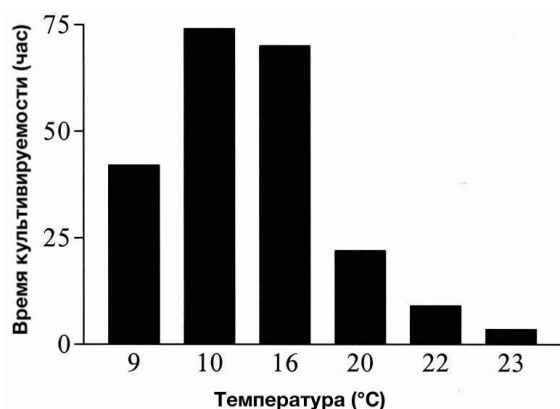
Также была исследована морфология клеток, так как они теряют свою культурологическую способность. Опять же, результаты соответствовали ранее опубликованным исследованиям [3, 6] в том, что по мере потери культивируемости в лаборатории процент стержней снижался, а процент кокков увеличивался (рис. 1В). Эти данные свидетельствуют о том, что по мере снижения культивируемости клетки *H. pylori* переходят из культивируемых стержней в некультивируемые кокки, возможно, проходя через форму О-У в качестве промежуточной стадии. Поскольку жизнеспособность сохраняется, это позволяет предположить, что клетки подвергаются морфологическому преобразованию из стержней в кокки по мере того, как *H. pylori* переходит в состояние ЖННК. Это изменение в морфологии также наблюдалось как в лабораторных условиях, так и в окружающей среде

для других видов бактерий, попадающих в состояние ЖННК [25]. Однако, когда процент стержней был небольшим по сравнению с процентом кокки, культивируемость оставалась на уровне са. 107 в течение приблизительно 6 дней. Эта большая культивируемая популяция кокков предполагает, что кокки могут быть как культивируемыми, так и некультивируемыми. Важно также, что са. 33% кокков, наблюдаемых в некультивируемой популяции в наших различных исследованиях, дали положительные результаты в анализах подсветки. Хотя некоторыми исследователями было высказано предположение, что кокки являются смертельной формой *H. pylori*, наши исследования демонстрируют жизнеспособность некультивируемых кокки.



Исследования, проведенные в лаборатории ценны, но не могут воспроизводить окружающую среду бактериальные клетки могут подвергаться воздействию в природе. Поскольку эпидемиологические данные подтверждают фекально-оральный путь передачи *H. pylori* [12-14, 22], естественным резервуаром для этого организма может быть пресноводный организм. Используя мембранные диффузионные камеры, клетки *H. pylori* подвергались воздействию естественной среды ручья, в то время как за их культивацией, жизнеспособностью и морфологическими изменениями осуществлялся мониторинг. В этих речных водах культивируемость клеток *H. pylori* со временем снижалась, достигая некультивируемости менее чем за 6 - около 70 часов. Несмотря на потерю культивируемых клеток во всех условиях окружающей среды, большое количество клеток оставалось жизнеспособным, о чем свидетельствуют результаты анализа подсветки. Напр., клетки, взвешенные в воде ручья 9°C, потеряли культурологическую жизнеспособность на

42 ч, и, тем не менее, около 1,6 10⁶ клеток/мл остались жизнеспособными (рис. 2). Это говорит о том, что по аналогии с результатами, полученными в наших лабораторно-риториальных исследованиях, *H. pylori* переходит в состояние ЖННК в естественной среде. Именно этот быстрый вход в состояние ЖННК может объяснить общую неспособность изолировать клетки *H. pylori* от окружающей среды. Lu и др. [20] недавно сообщили об изоляции клеток *H. pylori* из необработанных городских сточных вод, взятых с ноября по декабрь в Мексике, с применением иммуномагнитной сепарации перед культурой. Их успех, возможно, объясняется высоким уровнем распространенности *H. pylori* в исследуемом районе (74%), вероятностью того, что клетки были введены в сточные воды лишь незадолго до их выделения, а также низкой температурой в течение этого сезона. Наши результаты (рис. 3) показывают, что *H. pylori* способен оставаться культивируемым в естественных водах в течение 2-3 дней при низкой температуре.



В то время как значительная часть популяции клеток давала отрицательные подсветки – отрицательные результаты во всех экспериментальных исследованиях, около 10% (105-106) клеток оставались жизнеспособными. Удивительно, но анализ линейной регрессии показал, что по мере потери культивируемости не происходило статистически значимых изменений ни в одном из периодов отбора проб в процентном отношении жизнеспособных стержней, форм О-У или кокки. Рисунок 2 является репрезентативным для всех результатов экологических исследований и показывает постоянство этого числа для каждого морфотипа. Эти результаты отличаются от наших лабораторных данных и данных ранее опубликованных исследований и позволяют предположить, что при входе в состояние ЖННК в окружающей среде в клетках *H.*

pylori не наблюдается морфологической конверсии. Поэтому в окружающей среде в состоянии ЖННК могут присутствовать все морфологические формы этой бактерии. Исходя из исследований морфологического преобразования *V. vulnificus* в состоянии ЖННК [25], можно ожидать, что по мере того, как *H. pylori* входит в состояние ЖННК, преобладающей морфологией будет морфология кокки. Однако было установлено, что в популяции некультивируемых клеток помимо кокков присутствуют большие популяции жизнеспособных бацилл и форм О-У (рис. 2). Этот вывод согласуется с данными нашей лаборатории, которые показывают, что клетки могут существовать во всех морфологиях в культивируемых и некультивируемых состояниях.

Связь между температурой и культивацией была предложена Зольтешем [33], так как было установлено, что клинические изоляты и штаммы типа *H. pylori* дольше выживают во время транспортировки при температуре ниже 15°C. Наличие такой связи между температурой и культивируемостью было также предложено, когда было замечено, что клетки *H. pylori* дольше остаются культивируемыми в питательной среде, инкубируемой при температуре 4°C, по сравнению с результатами, полученными при 25, 40 и 42°C [15]. Было также обнаружено, что 99% клеток сохраняли дыхательную активность в течение, по крайней мере, 250 дней при 4°C, и что вся дыхательная активность была потеряна через 24 часа при 37°C [11]. Когда клетки *H. pylori* в наших исследованиях были помещены в естественную среду в течение 1 года, время, в течение которого они оставались культивируемыми, изменилось (рис. 3). В этих сезонных исследованиях температура воды варьировалась от 9 до 23°C. В целом, клетки оставались культивируемыми дольше в более прохладной (20°C) воде, чем в более теплой (20°). В течение каждого периода отбора проб измерялись уровни растворённого кислорода, pH, температуры, мутности, аммиака и фосфатов. В таблице 1 приведены средние значения измерений по каждому исследованию.

Для определения корреляции между количеством часов, в течение которых клетки *H. pylori* культивировались в окружающей среде, и измеренными параметрами окружающей среды использовался ранговый коэффициент Спирмена. Было установлено, что существует существенная корреляция между температурным (руп. 0,82857; P 0,05) и фосфатным (руп. 0,94286; P 0,05) уровнями и культивационностью в окружающей среде. Однако при последовательной корректировке Бонферрони было обнаружено, что

статистически значимой корреляции между этими параметрами окружающей среды и культивируемостью не было. Кроме того, был проведён многократный регрессионный анализ для определения того, объясняет ли какой-либо один из параметров окружающей среды изменение в степени технологичности. Было установлено, что ни один из параметров не соответствует статистически значимому уровню вклада в повышение пригодности *H. pylori* к использованию в окружающей среде. Поскольку наши исследования проводились в небольшом естественном

потоке пресной воды, присутствовало много переменных, которые невозможно было учесть или контролировать, включая сброс строительного мусора в поток в течение двух периодов отбора проб, а также утечку сточных вод в течение ещё одного периода отбора проб. Несмотря на то, что в наших исследованиях предлагается возможность взаимосвязи между температурой и/или уровнем фосфатов и их культивацией, для подтверждения такого вывода может потребоваться проведение более масштабного исследования.

Таблица 1

Средние значения параметров окружающей среды, измеренные в ходе каждого исследования

Месяц	Результаты					
	Температура воды (°C)	Аммиак (мг/литр)	Растворённый кислород (мг/литр)	pH	Фосфат (мг/литр)	Мутность (ЕОФ*)
Ноябрь	10	0.04	2.4	6.6	0.51	44
Февраль	9	0.13	8.7	7.4	0.21	82
Апрель	16	0.16	5.1	6.6	0.22	14
Август	22	0.61	3.6	6.8	0.11	114
Август	23	0.10	2.9	6.9	0.19	4.7
Сентябрь	20	0.38	3.8	7.0	0.20	79

*ЕОФ- единица ослабление форазина.

Заключение. Было показано, что некоторые виды бактерий, которые попадают в состояние ЖННК, восстанавливаются и становятся культивируемыми после изменения обычных условий культивирования. Клетки *V. vulnificus* восстанавливаются через повышение температуры [25], в то время как *Campylobacter jejuni* требует прохождения через зародышевые яйца [8]. В настоящее время не определены методы реанимации для *H. pylori*. Клетки, вошедшие в состояние ЖННК в окружающей среде, подвергались воздействию различных условий реанимации и исследовались на предмет роста. Рост не наблюдался ни при каких условиях, и попытки реанимации этого организма продолжаются в нашей лаборатории.

Это первое исследование, изучающее жизнеспособность *H. pylori* как в лабораторных условиях, так и в природной среде, так как при этом теряется культивация. Наши данные позволяют предположить, что *H. pylori* способен войти в состояние ЖННК по мере старения клеток в лаборатории или воздействия естественной, пресноводной среды. Клетки претерпели переход от культивируемых стержней к преимущественно некультивируемым коккам по мере того, как

они вошли в состояние ЖННК в лабораторных условиях; однако в естественной среде такого морфологического перехода не наблюдалось. Таким образом, *H. pylori*, по-видимому, существует во всех морфологических формах в окружающей среде. Кроме того, наши исследования позволяют предположить, что воздействие окружающей среды может побудить этот организм войти в состояние ЖННК и пребывать в окружающей среде до тех пор, пока он не вступит в состояние пригодного хозяина. По этой причине важно учитывать это состояние выживания *H. pylori* в естественной среде.

Литература:

1. Алонсо Дж.Л., Масселларо С., Морено И., Ферру М.А. и Эрна Андез Дж. Метод двойного окрашивания для дифференцировки морфологических изменений и мембранной целостности клеток *Campylobacter coli*. Энviron. Микробиол. 2002. - 68:5151-5154.
2. Асака М., Сепульведа А.Р., Сугияма Т., Грэм Д.Ю. Рак желудка. 2001. - С. 481-498.
3. In H.L.T. Mobley, G.L. Mendz, and S.L. Hazell (ed.), *Helicobacter pylori: physiology and genetics*. Американское общество микробной гидрологии, Вашингтон, округ Колумбия.

4. Бенсия М., Бабин П., Куэллард Н., Пезеннек Л., Кенатемпо И. и Фавкер Я.Л. Изменения ультраструктуры *Helicobacter pylori* и антигенов при переходе от бациллярной к коккообразной форме. Инфекция. Иммуитет. 64. - 1996. 2331-2335.
5. Бак Г.Е. *Campylobacter pilori* и желудочно-кишечная болезнь. Клини. Микробиол. Rev. - 1990.3:1-12.
6. Катреннич К.Э., Макин К.М. Характеристика морфологического преобразования *Helicobacter pylori* из бациллярной формы в коккообразной. Сканд. J. Гастроэнтерол. - 1991. 181:58-64.
7. Чаверрах П., А.А.Х.М. Тер, Хурн Л.Дж., Липман А. Ван Кнапен Ф. Выживание и реанимация десяти штаммов *Campylobacter jejuni* и *Campylobacter coli* в кислотных условиях. Аппликация. Энвирон. Микробиол. - 2003. 69:711-714.
8. Коул С.П., Чирилло Д., Кагнофф М.Ф., Гуини Д.Г. и Экман Л. Коккоидные и спиральные *Helicobacter pylori* отличаются способностью прилипать к эпителиальным клеткам желудка и индуцировать секрецию интерлейкина-8. Инфекция. Иммуитет. - 1997. 65:843-846.
9. Конвей Т., Школьник Г.К. Профилирование экспрессии микрочипов: фиксация общего генома транскриптома. Мол. Микробиол. 2003. 47:879-889.
10. Гриббон Л.Т., Барер М.Р. Окислительный метаболизм в клетках *Helicobacter pylori* и *Vibrio vulnificus*, не способных к культивированию, изученных субстратно-смещенным тетразолиевым восстановлением и цифровой обработкой изображений. Appl. Environ. Микробиол. - 1995. 61:3379-3384.
11. Хегарти Джей-Пи, Дауд М.Т., Бейкер К.Х. Появление гелико-бактерий пилори в поверхностных водах в Соединенных Штатах. Джей Эппл. Микробиол. - 1999. 87: 697-701.
12. Хегарти, Джей-Пи, Дауд М.Т., Бейкер К.Х. Появление гелико-бактерий пилори в поверхностных водах в Соединенных Штатах. Джей Эппл. Микробиол. - 1999. 87: 697-701.
13. Хультен, К., Хань С.В., Энрот Х., Кляйн П.Д., Опекун А.Р., Гилман Р.Х., Эванс Д.Г., Энгстранд Л., Грэм Д.И. и Эль-Заатари Ф.А. *Helicobacter pylori* в питьевой воде в Перу. Гастроэнтерология. - 1996. - 110:1031-1035.
14. Цзян Икс, Дойл М.П. Влияние факторов окружающей среды и субстрата на выживание и рост *Helicobacter pylori*. J. Food Prot. - 1998. 61:929- 933.
15. Ламберт Джей-Пи, Лин С.К., Джей Аранда-Мишель. Хеликобактер пилори. Сканд. Джей Гастроэнтерол. 30 (Suppl. 208):33-46. - 1995.
16. Лу Ю., Редлингер Т.Е., Авития Р., Галиндо А., Гудман К. Изоляция и генотипирование *Helicobacter pylori* из неочищенных городских сточных вод. Аппликация. Энвирон. Микробиол. - 2002. 68:1436-1439.
17. Морено Ю., Феррус М.А., Алонсо Ж.Л., Хименес А., Эрнандес Ж. Использование флуоресцентной гибридизации in situ для доказательства присутствия в воде *Helicobacter pylori*. Вода Рез. - 2003. - 37:2251-2256.
18. Нильссон Л., Оливер Д., Кьельберг С. Реанимация *Vibrio vulnificus* из жизнеспособного, но не культивируемого состояния. Дж. Бактериол. - 1991. - 173:5024-5059.
19. Оливер Дж.Д. Значение жизнеспособных, но не культивируемых бактерий для общественного здравоохранения. - 2002. - С. 277-300.
20. Колвелл Р.Р., Граймс Д.Дж. Некультивируемые микроорганизмы в окружающей среде. Американское общество микробиологии, Вашингтон, округ Колумбия.
21. Питерсон В.И. *Helicobacter pylori* and peptic ulcer disease (*Helicobacter pylori* и язвенная болезнь желудка). N. Engl. J. Med. - 1991.324:1043-1048.
22. Райс У.Р. Анализирующие таблицы статистических тестов. Эволюция. - 1989. 43:223-225.
23. Родригес Г.Г., Фиппс Д., Ишигуро К., Риджвей Х.Ф. Использование флуоресцентного окислительно-восстановительного зонда для прямой визуализации активно дышащих бактерий. Риа. App. Энвирон. Микробиол. - 1992. 58:1801—1808.
24. Шахамат М., Пасско-Колва К., Ямамото Х., Колвелл Р. Экологические исследования *Campylobacter pylori*. Клини. Wochenschr. 67(Suppl. XVII): 62-63. - 1989.
25. Шахамат М., Май У., Пасзко-Колва К.П., Кессель М., Колвелл Р.Р. Использование автордиографии для оценки жизнеспособности *Helicobacter pylori* в воде. Яблоко. Энвирон. Микробиол. - 1993. 59:1231-1235.
26. Зольтеш В., Зиберг Б., Вадстром Т. Оптимальное выживание *Helicobacter pylori* в различных условиях транспортировки. Джей-Клини. Микробиол. - 1992. - 30:1453-1456.