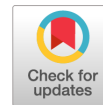


ПАТОМОРФОЛОГИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ИНФЕКЦИИ, ВЫЗВАННОЙ ШТАММАМИ *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS*, НАХОДИВШИМИСЯ В ДОРМАНТНОМ СОСТОЯНИИ



Л.М. Сомова, Б.Г. Андрюков, И.Н. Ляпун, Е.И. Дробот, О.С. Рязанова,
Е.В. Матосова, М.П. Бынина, Н.Ф. Тимченко

ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия

Резюме. В 2000-х годах, с развитием научных исследований о некультивируемом (дормантном) состоянии патогенных бактерий, стали формироваться представления о персистентных, хронически рецидивирующих инфекциях, трудно поддающихся антибиотикотерапии. Однако относительно псевдотуберкулеза человека (дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки, ДСЛ) этот вопрос остается открытым. При анализе патологии псевдотуберкулеза, его клинико-эпидемического проявления в виде ДСЛ, нами выделены этиопатогенетические предпосылки рецидивирования болезни и развития персистентной инфекции. В данной работе установлено, что штаммы *Yersinia pseudotuberculosis*, находившиеся в дормантном состоянии *in vivo*, вызывали развитие в органах-мишенях своеобразного гранулематозного воспаления с выраженными реакциями гиперчувствительности замедленного типа. Для воспроизведения экспериментальной инфекции было проведено внутрибрюшинное заражение половозрелых белых мышей штаммом 512 *Y. pseudotuberculosis* серотипа I, который хранился в течение 10 лет в музее НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова и перешел в дормантное состояние. Для проведения сравнительных исследований из вегетативных бактерий штамма 512 *Y. pseudotuberculosis* была получена их дормантная форма путем воздействия большой дозы канамицина (минимальная доза антибиотика была превышена в 25 раз). Заражающая доза обеих форм бактерий составила 10^8 мк/мышь. Для гистологического исследования на 3, 7, 10, 14, 21 и 32-е сутки после заражения взяты образцы органов-мишеней (легкое, печень, селезенка). Гистологические срезы толщиной 3–5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятым методикам. Установлено, что *in vivo* штаммы *Y. pseudotuberculosis*, находившиеся в дормантном состоянии, вызвали развитие своеобразного гранулематозного воспаления за счет реакций гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ), которое характеризует защитную реакцию инфицированного организма и отражает формирование местного, тканевого иммунитета в органах-мишенях. Выявлены следующие особенности гранулематозного воспаления по сравнению с таковым при заражении вегетативными («дикими») бактериями *Y. pseudotuberculosis*: гранулемы были преимущественно мелких размеров, четко отграниченные от окружающей ткани, без деструк-

Адрес для переписки:

Сомова Лариса Михайловна
690087, Россия, г. Владивосток, ул. Сельская, 1,
ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии
имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора.
Тел./факс: 8 (423) 244-14-38.
E-mail: l_somova@mail.ru

Contacts:

Larisa M. Somova
690087, Russian Federation, Vladivostok, Selskaya str., 1,
Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology.
Phone/fax: +7 (423) 244-14-38.
E-mail: l_somova@mail.ru

Для цитирования:

Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Ляпун И.Н., Дробот Е.И., Рязанова О.С.,
Матосова Е.В., Бынина М.П., Тимченко Н.Ф. Патоморфология
экспериментальной инфекции, вызванной штаммами *Yersinia*
pseudotuberculosis, находившимися в дормантном состоянии //
Инфекция и иммунитет. 2022. Т. 12, № 1. С. 69–77. doi: 10.15789/2220-
7619-POE-1674

Citation:

Somova L.M., Andryukov B.G., Lyapun I.N., Drobot E.I., Ryazanova O.S.,
Matosova E.V., Bynina M.P., Timchenko N.F. Pathomorphology
of experimental infection caused by dormant *Yersinia pseudotuberculosis*
strains // Russian Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet,
2022, vol. 12, no. 1, pp. 69–77. doi: 10.15789/2220-7619-POE-1674

ции клеток центральной зоны и формирования так называемых «гранулем с центральным кариорексисом» (по терминологии А.П. Авцына); периваскулярные инфильтраты и васкулиты состояли в основном из лимфоцитов и часто имели фолликулоподобный вид, напоминая фолликулы лимфоидных органов; в легких наблюдалась хорошо выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани, а в селезенке — фолликулярная гиперплазия, указывающая на Т-клеточную защитную реакцию. Таким образом, возбудитель псевдотуберкулеза/ДСЛ, находясь в дормантном состоянии, инициирует развитие иммуноморфологических изменений защитного характера в виде продуктивного гранулематозного воспаления с реакциями местного, тканевого иммунитета в органах-мишенях и может способствовать формированию персистентной инфекции.

Ключевые слова: *Yersinia pseudotuberculosis*, дормантное состояние, экспериментальная инфекция, патоморфология, гранулематозное воспаление, персистентная инфекция.

PATHOMORPHOLOGY OF EXPERIMENTAL INFECTION CAUSED BY DORMANT *YERSINIA PSEUDOTUBERCULOSIS* STRAINS

Somova L.M., Andryukov B.G., Lyapun I.N., Drobot E.I., Ryazanova O.S., Matosova E.V., Bynina M.P., Timchenko N.F.

Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation

Abstract. In the 2000s, with the development of scientific research on the uncultivated (dormant) state of pathogenic bacteria, the ideas about persistent, chronically recurrent infections, difficult to respond to antibiotic therapy have begun to shape. However, regarding human pseudotuberculosis (Far Eastern scarlet-like fever, FESLF), this question remains open. While analyzing the pathology of pseudotuberculosis, its clinical and epidemic manifestation as FESLF, we identified the etiopathogenetic prerequisites for the disease recurrence and development of persistent infection. In this study it was found that the strains of *Yersinia pseudotuberculosis* which were in a dormant state caused the development of a peculiar granulomatous inflammation in target organs with pronounced delayed-type hypersensitivity reactions *in vivo*. To reproduce the experimental infection, sexually mature white mice were inoculated with the strain 512 *Y. pseudotuberculosis*, serotype I stored for 10 years at the Museum of Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology and transformed into a dormant state. For comparative studies, a dormant form from vegetative bacteria of the strain 512 *Y. pseudotuberculosis* was obtained by exposure to a large dose of kanamycin (the minimum antibiotic dose was exceeded 25 times). The infecting dose of both forms of bacteria was 10^8 μ /mouse. Samples of target organs (lung, liver, spleen) were collected for histological examination on days 3, 7, 10, 14, 21 and 32 after infection. Histological sections with 3–5 μ m thickness were stained with hematoxylin and eosin according to standard techniques. It was established that strains of *Y. pseudotuberculosis* in dormant state caused *in vivo* development of a peculiar granulomatous inflammation due to delayed-type hypersensitivity reactions (DHR), which characterizes the protective reaction in infected host and reflects formation of local, tissue immunity in target organs. The peculiarities of granulomatous inflammation were revealed, in comparison with that of found during infection with vegetative (“wild”) *Y. pseudotuberculosis* bacteria, namely: the granulomas were predominantly small in size, clearly delimited from the surrounding tissue, without destruction of central zone cells and formation of the so-called “granulomas with central karyorrhesis” (terminology proposed by A.P. Avtsyn); perivascular infiltrates and vasculitis consisted mainly of lymphocytes and often had a follicle-like appearance, resembling the follicles in lymphoid organs; in the lungs, a well-marked reaction of the bronchial-associated lymphoid tissue was observed, and in the spleen, a follicular hyperplasia, indicating a T-cell defense reaction, was observed. Thus, the causative agent of *Y. pseudotuberculosis* infection/FESLF, being in a dormant state, initiates the development of immunomorphological changes of protective nature such as productive granulomatous inflammation with reactions of local tissue immunity in target organs and can contribute to the formation of persistent infection.

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, dormant state, experimental infection, pathomorphology, granulomatous inflammation, persistent infection.

Введение

В 2000-х гг., с развитием научных исследований о некультивируемом (дормантном) состоянии патогенных бактерий, стали формироваться представления о персистентных, хронически рецидивирующих инфекциях, трудно поддающихся антибиотикотерапии [6, 7, 9, 10],

однако относительно псевдотуберкулеза этот вопрос остается открытым. При анализе патологии псевдотуберкулеза, его клинико-эпидемического проявления в виде дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки (ДСЛ), нами выделены этиопатогенетические предпосылки рецидивирования болезни и развития персистентной инфекции [3].

Нами впервые были получены данные о возможности существования *Yersinia pseudotuberculosis* в dormantном состоянии в условиях низкой температуры и показана ультраструктура dormantных форм этих бактерий как представителей одного из основных родов возбудителей сапрозоонозов (сапронозов) [5]. До сих пор в доступной литературе не удалось обнаружить сведений о патоморфологии инфекций, вызванных dormantными формами патогенных энтеробактерий, в том числе бактерий рода *Yersinia*. В связи с вышеперечисленным целью данной работы явилось патоморфологическое исследование органов-мишеней при инфекции, ассоциированной с возбудителем псевдотуберкулеза, находившимся в dormantном состоянии, в сравнении с таковыми у животных, инфицированных вегетативной формой *Y. pseudotuberculosis*.

Материалы и методы

Для воспроизведения экспериментальной инфекции было проведено внутрибрюшинное заражение половозрелых белых мышей (самок) массой 18–25 г. Животные находились на стандартной диете в боксированных помещениях с соблюдением всех правил и международных рекомендаций Европейской конвенции.

Для заражения животных был взят штамм 512 *Yersinia pseudotuberculosis*, серотип I, который хранился в течение 10 лет в музее НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова (Владивосток) под вазелиновым маслом в условиях низкой температуры, при этом его вирулентность для мышей за последний год значительно снизилась ($LD_{50} = 10^8$ м.к./мл). При электронно-микроскопическом исследовании было установлено, что бактерии этого штамма находились в dormantном состоянии: в бактериальной популяции присутствовали клетки с пустым и темным цитозолем, что указывало соответственно на полную или частичную деградацию хроматина в зоне нуклеоида [5]. Заражающая доза бактерий составила 10^8 м.к./мышь.

Для проведения сравнительных исследований из вегетативных бактерий *Y. pseudotuberculosis* штамма 512 была получена их dormantная форма путем воздействия большой дозы канамицина (минимальная доза антибиотика была превышена в 25 раз; заражающая доза обеих форм бактерий составила 10^8 м.к./мышь). Вегетативные бактериальные клетки были получены путем однократного пересева исходного (музейного) штамма 512, находившегося в dormantном состоянии, с косога агара на питательную дифференциально-диагностическую среду Серова с последующей проверкой их био-

химических и культурально-морфологических свойств, подтвердивших типичную вегетативную форму бактерий *Y. pseudotuberculosis*.

Для гистологического исследования на 3, 7, 10, 14, 21 и 32-е сутки после заражения взяты органы-мишени (легкое, печень, селезенка). Образцы органов фиксировали в 10% растворе формалина, забуференного по Лилли, обезвоживали в этаноле возрастающей концентрации и заливали в парафин по общепринятой методике. Гистологические срезы толщиной 3–5 мкм депарафинировали, окрашивали гематоксилином и эозином по общепринятым методикам.

Результаты

В опыте внутрибрюшинного заражения животных музейным штаммом 512 *Y. pseudotuberculosis*, находившимся в dormantном состоянии, начиная с 7 суток после инфицирования визуальное наблюдение показало у части животных наличие в брюшной полости большого количества мутной жидкости, в некоторых случаях — увеличение размеров и зернистость поверхности селезенки. Макроскопические изменения, типичные для псевдотуберкулезной инфекции (мелкие абсцессоподобные бугорки желтовато-серого цвета в печени и селезенке), не обнаружены.

При гистологическом исследовании на 3 сутки после заражения в селезенке обнаружена выраженная фолликулярная гиперплазия (лимфоидные фолликулы белой пульпы хорошо выражены, с отчетливыми светлыми центрами) (рис. 1А), имелось много гигантских многоядерных клеток, что указывало на антигенную стимуляцию макроорганизма. В печени выявлялись мелкоочаговые скопления мононуклеарных клеток (макрофагов, лимфоцитов) в виде узелков и вокруг сосудов (признаки гранулематозного воспаления) (рис. 1Б). В легком отмечена гиперплазия бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани, умеренная периваскулярная мононуклеарная инфильтрация.

На 7 сутки после заражения в селезенке имелись резко выраженная гигантоклеточная реакция и гиперплазия белой пульпы. В печени обнаружены многочисленные плотные мононуклеарные инфильтраты овальной формы, связанные с сосудистой стенкой (рис. 2А), мозаично распространенные дистрофические изменения гепатоцитов. В легком отмечались полнокровие сосудов, своеобразная картина гранулематозного воспаления: периваскулярные и субплевральные плотные инфильтраты из мононуклеарных клеток округлой формы (фолликулоподобный тип) (рис. 2Б), выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной

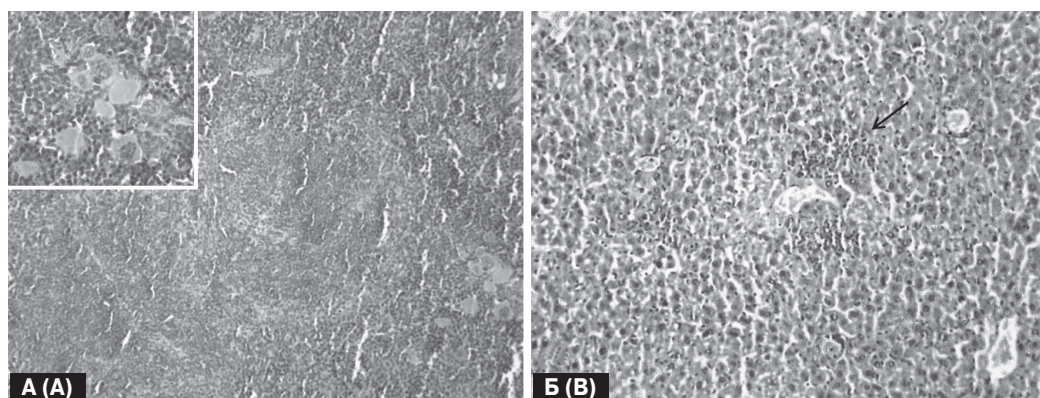


Рисунок 1. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной dormantной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 3 сутки после заражения

Figure 1. Pathohistological changes in experimental infection caused by dormant *Y. pseudotuberculosis* strain 512. 3 days postinfection

Примечания. А) фолликулярная гиперплазия в селезенке, гигантоклеточная реакция, $\times 200$, вставка $\times 600$; Б) рыхлые узелки из мононуклеарных клеток в паренхиме печени (стрелка), $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином.
Notes. A) follicular hyperplasia in the spleen, giant cell reaction, $\times 200$, insert $\times 600$; B) loose nodules of mononuclear cells in the liver parenchyma (arrow), $\times 200$. Staining with hematoxylin and eosin.

ткани с образованием крупных инфильтратов (рис. 2В). Описанные изменения варьировали по степени выраженности у разных животных.

На 10 сутки после заражения в селезенке выявлена гиперплазия с наличием крупных лимфоидных фолликулов и умеренно выраженной гигантоклеточной реакцией. В печени наблюдалось умеренно выраженное гранулематозное воспаление с наличием как крупных периваскулярных инфильтратов (у одной из трех мы-

шей) (рис. 3А), так и мелких узелков из мононуклеарных клеток в печеночной паренхиме (рис. 3Б). В легком у одной из трех мышей обнаружена значительная лимфоидная инфильтрация вокруг сосудов и бронхов в виде узелков, отграниченных от окружающей ткани.

На 14 и 21 сутки после заражения картина селезенки соответствовала таковой у контрольных (незараженных) животных. В легких обнаружена умеренная лимфоидная инфильтрация вокруг

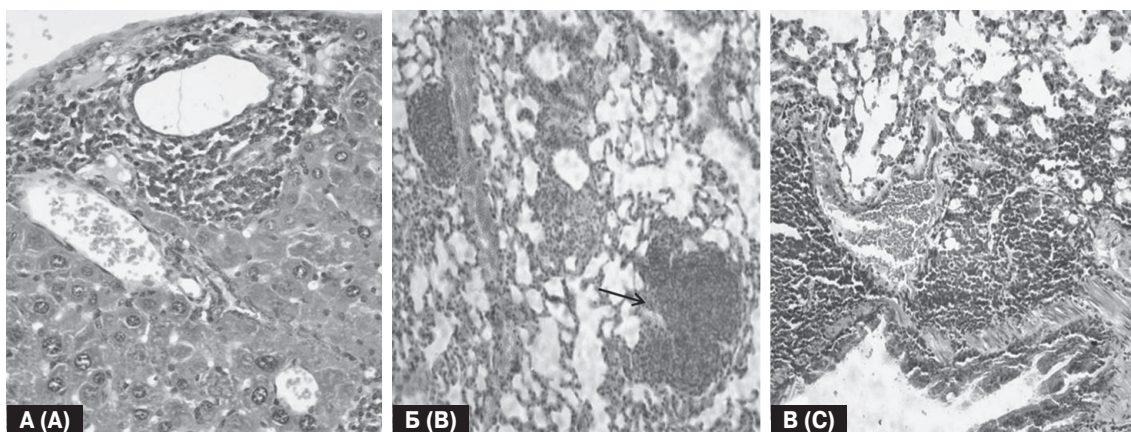


Рисунок 2. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной dormantной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 7 сутки после заражения

Figure 2. Pathohistological changes in experimental infection caused by dormant *Y. pseudotuberculosis* strain 512. 7 days postinfection

Примечания. А) мононуклеарные инфильтраты вокруг сосудов в печени, $\times 400$; Б) периваскулярные фолликулоподобные инфильтраты в легком, состоящие из мононуклеарных клеток (стрелка), $\times 200$; В) выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани в легком, $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) mononuclear infiltrates around the vessels in the liver, $\times 400$; B) lung perivascular, follicle-like infiltrates consisting of mononuclear cells (arrow), $\times 200$; C) a marked reaction of bronchial-associated lymphoid tissue in the lung, $\times 200$. Staining with hematoxylin and eosin.

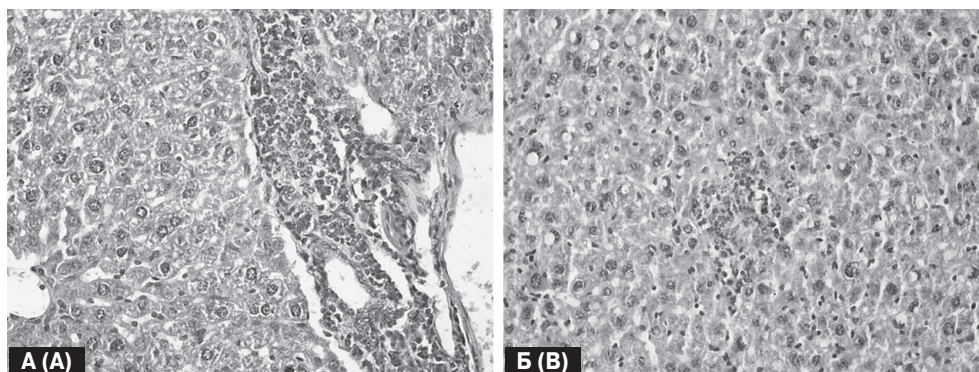


Рисунок 3. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной dormantной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 10 суток после заражения

Figure 3. Pathohistological changes in experimental infection caused by dormant strain of *Y. pseudotuberculosis* strain 512. 10 days postinfection

Примечания. А) крупный мононуклеарный инфильтрат вокруг сосудов портального тракта, $\times 400$; Б) мелкий лимфоцитарный узелок в паренхиме печени, $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) large mononuclear infiltrate around the vessels of the portal tract, $\times 400$; B) a small lymphocytic nodule in the liver parenchyma, $\times 400$. Staining with hematoxylin and eosin.

сосудов и бронхов в виде узелков, отграниченных от окружающей ткани (рис. 4А). В печени — полнокровие сосудов, рыхлая периваскулярная инфильтрация вокруг некоторых сосудов, мелкие узелки из мононуклеарных клеток.

На 32 сутки после заражения у части исследованных животных сохранялись в легком плотные периваскулярные (рис. 4Б) и перибронхиальные инфильтраты, состоящие из лимфоцитов, в печени — умеренная периваскулярная инфильтрация и немногочисленные узелки из лимфоидных клеток, четко отграниченные от окружающей ткани.

В опыте сравнительного исследования инфекции, вызванной вегетативной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis* и канамицин-индуцированной dormantной формой, выявлены клиничко-морфологические различия. При визуальном наблюдении до 7 суток после заражения внешних признаков заболевания у животных, зараженных dormantной формой *Y. pseudotuberculosis*, не было выявлено, тогда как у животных, зараженных вегетативными бактериями, отмечались отказ от пищи, снижение двигательной активности, взъерошенность шерсти. На 14–21 сутки инфекции (срок наблю-

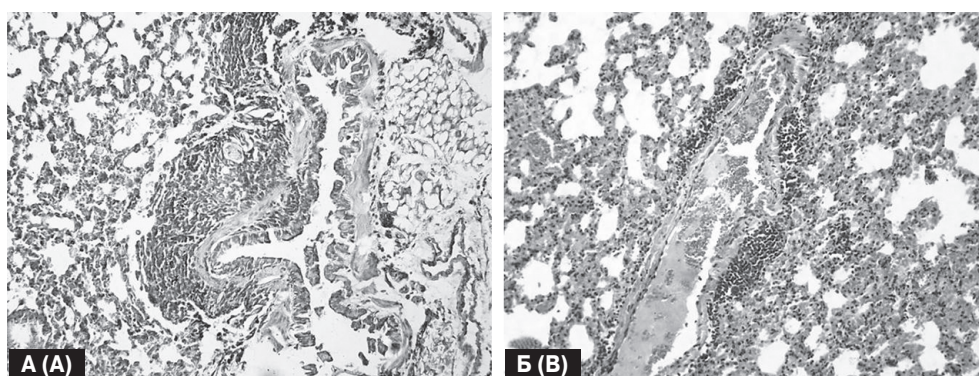


Рисунок 4. Выраженная гиперплазия бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани в легком при экспериментальной инфекции, вызванной dormantной формой штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*

Figure 4. A profound hyperplasia of bronchial-associated lymphoid tissue during experimental infection caused by the dormant *Y. pseudotuberculosis* strain 512

Примечания. А) лимфоидный инфильтрат в стенке бронха, четко отграниченный от перибронхиальной ткани, 14 суток после заражения, $\times 200$; Б) плотный периваскулярный инфильтрат, состоящий из лимфоцитов, 32 суток после заражения, $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) lymphoid infiltrate in the bronchial wall, clearly delimited from the peribronchial tissue, 14 days postinfection, $\times 200$; B) dense perivascular infiltrate, consisting of lymphocytes, 32 days postinfection, $\times 200$. Staining with hematoxylin and eosin.

дения) эти симптомы выявлены у всех мышей, зараженных обеими бактериальными формами *Y. pseudotuberculosis*. Макроскопически у мышей, зараженных вегетативными бактериями, на 7–14 сутки на поверхности селезенки и печени определялись небольшие округлые очажки белесоватого цвета.

В группе животных, зараженных канамицин-индуцированной dormantной формой *Y. pseudotuberculosis*, гистологические изменения в органах были аналогичными таковым в первом опыте при заражении музейным dormantным штаммом 512: в легком наблюдались мощные периваскулярные муфты, состоящие преимущественно из лимфоцитов, и выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани; в селезенке — фолликулярная гиперплазия и выраженная гигантоклеточная реакция.

По сравнению с животными, зараженными канамицин-индуцированной dormantной формой *Y. pseudotuberculosis*, в группе животных, за-

раженных вегетативными бактериями штамма 512, на 7 сутки после заражения гранулематозные изменения в органах носили более острый характер, с наличием реакций гиперчувствительности как замедленного (ГЗТ), так и немедленного (ГНТ) типов. Так, в печени выявлялись полиморфноклеточные периваскулярные инфильтраты (рис. 5А) и единичные рыхлые узелки, состоящие из макрофагов и нейтрофилов. Также встречались крупные очаги с проникновением эффекторных клеток воспаления в окружающую ткань и признаками деструкции клеток (рис. 5Б) — типичные псевдотуберкулезные гранулемы с центральным кариорексисом (по терминологии А.П. Авцына) [4]. В легком обнаружены крупноочаговая бронхопневмония с полиморфноклеточной инфильтрацией и типичными гранулемами (рис. 5В, Г) либо очаги воспаления с рыхлой инфильтрацией полиморфными клетками и эритродиapedезом. В селезенке наблюдалось преобладание лимфо-

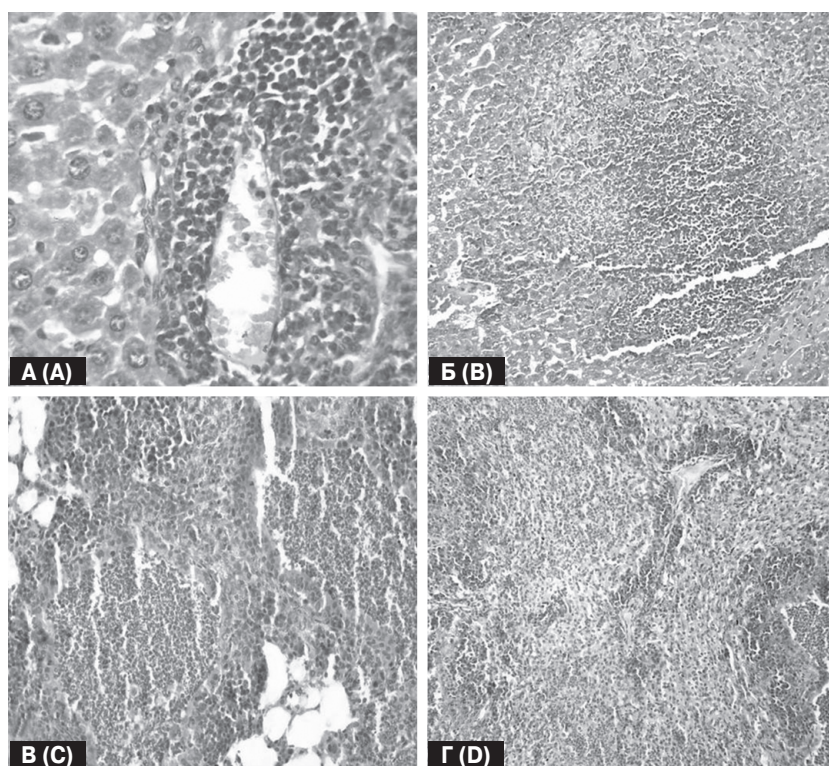


Рисунок 5. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной вегетативными бактериями штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 7 сутки после заражения

Figure 5. Pathohistological changes in experimental infection caused by vegetative bacterial strain 512 *Y. pseudotuberculosis*. 7 days postinfection

Примечания. А) полиморфноклеточный инфильтрат («муфта»), $\times 400$; Б) крупный очаг с деструкцией в центральной зоне и проникновением эффекторных клеток воспаления в окружающую ткань, $\times 200$; В) крупноочаговая бронхопневмония с полиморфноклеточной инфильтрацией, $\times 200$; Г) формирование гранулем с распадом клеток в центральной зоне, $\times 400$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) polymorphonuclear cell infiltrate ("sleeve"), $\times 400$; B) large focus with destruction in the central zone and the penetration of inflammatory effector cells into the surrounding tissue, $\times 200$; C) large-focal bronchopneumonia with polymorphonuclear cell infiltration, $\times 200$; D) formation of granulomas with cell disintegration in the central zone, $\times 400$. Staining with hematoxylin and eosin.

идных фолликулов небольших размеров и незначительная гигантоклеточная реакция (легкая гипоплазия), что свидетельствовало о патогенном потенциале инфицирующего агента.

Уже на 14 сутки после заражения вегетативными бактериями *Y. pseudotuberculosis* в селезенке обнаружена незначительная гигантоклеточная реакция, а в печени наблюдалось менее выраженное продуктивное воспаление, чем в предыдущий срок, с наличием только реакций ГЗТ в виде мононуклеарных периваскулярных инфильтратов без проникновения клеток в окружающую ткань и компактных узелков небольшого размера, а кое-где встречались мощные периваскулярные инфильтраты в виде муфт. В легком имелась незначительная мононуклеарная периваскулярная инфильтрация, слабая реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани. На 21 сутки после заражения вегетативными бактериями *Y. pseudotuberculosis* сохранялись описанные изменения, варьирующие у разных животных по степени выраженности: в печени (рис. 6А) и в легком (рис. 6Б) от остаточных явлений мелкоочагового воспаления до крупных фолликулоподобных лимфоидных инфильтратов вокруг сосудов.

Обсуждение

Вклад бактерий-персистеров в хронизацию инфекционного процесса может быть связан с тем, что они сохраняются в клетках зараженного организма, в частности в макрофагах и клетках гранулем [11]. Гранулемы возникают при заболеваниях, которые носят хронический, волнообразный характер течения, то есть с пе-

риодами обострений и ремиссий. Однако гранулематозное воспаление может наблюдаться и при острых инфекционных заболеваниях, в том числе при псевдотуберкулезе [4].

Полученные *in vivo* данные свидетельствуют о том, что штаммы *Y. pseudotuberculosis*, находившиеся в dormantном состоянии, вызвали развитие своеобразного гранулематозного воспаления, характеризующего защитную реакцию инфицированного организма (за счет реакций гиперчувствительности замедленного типа), что отражает формирование местного, тканевого иммунитета в органах-мишенях. Выявлены особенности гранулематозного воспаления по сравнению с таковыми при заражении вегетативными бактериями *Y. pseudotuberculosis*: гранулемы были преимущественно мелких размеров, четко отграниченные от окружающей ткани, без деструкции клеток центральной зоны; периваскулярные инфильтраты и васкулиты состояли в основном из лимфоцитов и часто имели фолликулоподобный вид (напоминали фолликулы лимфоидных органов); в легких наблюдалась хорошо выраженная реакция бронхо-ассоциированной лимфоидной ткани, а в селезенке — фолликулярная гиперплазия, указывающая на Т-клеточную защитную реакцию. Эти изменения сохранялись до 32-х суток после заражения (срок наблюдения).

При заражении вегетативными бактериями *Y. pseudotuberculosis* гранулематозное воспаление отличалось большей остротой с наличием реакций не только ГЗТ, но и ГНТ с проникновением клеток воспаления за пределы инфильтратов в окружающую ткань. Это отмечалось только в ранние сроки инфекции (на 7 сутки после за-

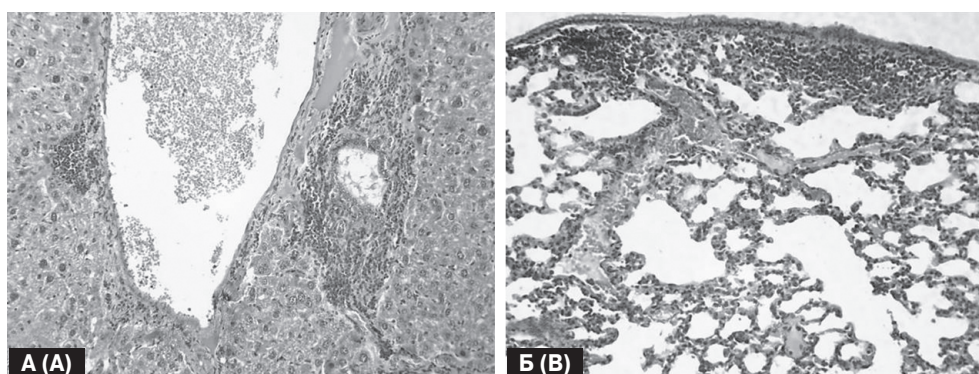


Рисунок 6. Патогистологические изменения при экспериментальной инфекции, вызванной вегетативными бактериями штамма 512 *Y. pseudotuberculosis*. 21 сутки после заражения
 Figure 6. Pathohistological changes in experimental infection caused by vegetative bacterial strain 512 *Y. pseudotuberculosis*. 21 days postinfection

Примечания. А) фолликулоподобные лимфоидные инфильтраты вблизи сосуда в печени, $\times 200$; Б) лимфоидные инфильтраты в легком, $\times 200$. Окраска гематоксилином и эозином.

Notes. A) follicle-like lymphoid infiltrates near the vessel in the liver, $\times 200$; B) lymphoid infiltrates in the lung, $\times 200$. Staining with hematoxylin and eosin.

ражения), без дальнейшего прогрессирования воспалительно-деструктивных изменений, что характерно для слабовирулентных штаммов *Y. pseudotuberculosis* [4]. Следовательно, для восстановления патогенного потенциала вегетативных бактерий использованного во втором опыте штамма 512 *Y. pseudotuberculosis* необходимы были его повторные пересевы с косога агар на питательную дифференциально-диагностическую среду Серова.

В настоящее время стали обсуждаться вопросы гранулематозного воспаления в его взаимосвязи с персистенцией возбудителей инфекционных болезней. При псевдотуберкулезе гранулематозное воспаление является наиболее типичной тканевой реакцией, что может создавать условия для персистенции возбудителя [2].

Морфология гранул, формирующихся при заражении *Y. pseudotuberculosis*, отражает тяжесть течения инфекционного процесса и выраженность иммунной защиты макроорганизма. Все большее подтверждение находит концепция развития гранулематозного воспаления в связи с инфицированием штаммами *Y. pseudotuberculosis*, имеющими сниженную вирулентность, когда в воспалительных очагах преобладают реакции гиперчувствительности замедленного типа. Благоприятный исход большинства случаев

псевдотуберкулеза у человека позволяет предположить, что еще в острой фазе заболевания под влиянием эндогенных факторов может происходить потеря одного из важных факторов вирулентности *Y. pseudotuberculosis* — цитотоксического некротизирующего фактора (CNFY) — и переход патогена в слабовирулентный *cnf*-мутант, способный к персистенции в местах гранулематозного воспаления [1, 2, 8]. Действительно, в первом эксперименте использованный для заражения животных авирулентный (слабовирулентный) штамм 512 *Y. pseudotuberculosis*, находившийся в дормантном состоянии, потерял способность продуцировать CNFY-токсин и вызвал развитие вышеописанного гранулематозного воспаления.

Таким образом, полученные данные о морфологической характеристике инфекционного процесса, вызванного вышеуказанными слабовирулентными штаммами *Y. pseudotuberculosis*, свидетельствуют о том, что возбудитель псевдотуберкулеза, находясь в дормантном состоянии, инициирует развитие иммуноморфологических изменений защитного характера в виде гранулематозного воспаления с выраженными реакциями гиперчувствительности замедленного типа и может способствовать формированию персистентной инфекции.

Список литературы/References

1. Персиянова Е.В., Адгамов Р.Р., Сурин А.К., Псарева Е.К., Ермолаева С.А. Цитотоксический некротизирующий фактор *Yersinia pseudotuberculosis*, возбудителя дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки // Бюллетень СО РАМН. 2013. Т. 33, № 2. С. 16–20. [Persyanova E.V., Adgamov R.R., Surin A.K., Psareva E.K., Ermolaeva S.A. Cytotoxic necrotizing factor of *Yersinia pseudotuberculosis*, pathogen of Far Eastern scarlet-like fever. *Biulleten' SO RAMN = Bulletin of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences*, 2013, vol. 33, no. 2, pp. 16–20. (In Russ.)]
2. Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Дробот Е.И., Ляпун И.Н. Гранулематозное воспаление как фактор, способствующий персистенции патогена при инфекции, вызванной *Yersinia pseudotuberculosis* // Клиническая и экспериментальная морфология. 2020. Т. 1, № 9. С. 5–10. [Somova L.M., Andryukov B.G., Drobot E.I., Lyapun I.N. Granulomatous inflammation as a factor contributing to the pathogen persistence during infection caused by *Yersinia pseudotuberculosis*. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya = Clinical and Experimental Morphology*, 2020, vol. 1, no. 9, pp. 5–10. (In Russ.)] doi: 10.31088/CEM2020.9.1.5-10
3. Сомова Л.М., Андрюков Б.Г., Тимченко Н.Ф., Псарева Е.К. Псевдотуберкулез как персистентная инфекция: этиопатогенетические предпосылки // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2019. № 2. С. 110–119. [Somova L.M., Andryukov B.G., Timchenko N.F., Psareva E.K. Pseudotuberculosis as a persistent infection: etiopathogenetic prerequisites. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii = Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 2019, no. 2, pp. 110–119. (In Russ.)] doi: 10.36233/0372-9311-2019-2-110-119
4. Сомова Л.М., Антоненко Ф.Ф. Псевдотуберкулез (клинико-морфологические аспекты). М.: Наука, 2019. 328 с. [Somova L.M., Antonenko F.F. Pseudotuberculosis (clinical and morphological aspects). *Moscow: Science*, 2019. 328 p. (In Russ.)]
5. Сомова Л.М., Тимченко Н.Ф., Ляпун И.Н., Матосова Е.В., Бынина М.П. Ультраструктурные изменения бактерий статической культуры *Yersinia pseudotuberculosis* при длительном хранении в условиях низкой температуры // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2020. Т. 170, № 8. С. 192–195. [Somova L.M., Timchenko N.F., Lyapun I.N., Matosova E.V., Bynina M.P. Ultrastructural changes of bacteria in static cultures of *Yersinia pseudotuberculosis* under long storage at the conditions of low temperature. *Biulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny = Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2020, vol. 170, no. 8, pp. 192–195. (In Russ.)]
6. Ayrapetyan M., Williams T.C., Baxter R., Oliver J.D. Viable but nonculturable and persister cells coexist stochastically and are induced by human serum. *Infect. Immunol.*, 2015, vol. 83, no. 11, pp. 4194–4203. doi: 10.1128/IAI.00404-15
7. Grant S.S., Hung D.T. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance and the oxidative stress response. *Virulence*, 2013, vol. 4, no. 4, pp. 273–283. doi: 10.4161/viru.23987
8. Heine W., Beckstette M., Heroven K., Thiemann S., Heise U., Niss A.M., Pisano F., Strowig T., Dersch P. Loss of CNFY toxin-induced inflammation drives *Yersinia pseudotuberculosis* into persistence. *PLoS Pathog.*, 2018, vol. 14, no. 2: e1006858. doi: 10.1371/journal.ppat.1006858

9. Jayaraman R. Bacterial persistence: some new insights into an old phenomenon. *J. Biosci.*, 2008, vol. 33, no. 5, pp. 795–805. doi: 10.1007/s12038-008-0099-3
10. Kim J.-S., Chowdhury N., Wood T.K. Viable but non-culturable cells are persister cells. *Environ. Microbiol.*, 2018, vol. 20, no. 6, pp. 2038–2048. doi: 10.1111/1462-2920.14075
11. Lewis K. Persister cells: molecular mechanisms related to antibiotic tolerance. *Handb. Exp. Pharmacol.*, 2012, vol. 211, pp. 121–133. doi: 10.1007/978-3-642-28951-4-8

Авторы:

Сомова Л.М., д.м.н., профессор, главный научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Андрюков Б.Г., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Ляпун И.Н., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Дробот Е.И., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Рязанова О.С., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Матосова Е.В., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Бынина М.П., младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия;

Тимченко Н.Ф., д.м.н., профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии ФГБНУ НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Г.П. Сомова Роспотребнадзора, г. Владивосток, Россия.

Authors:

Somova L.M., PhD, MD (Medicine), Professor, Head Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Andryukov B.G., PhD, MD (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Lyapun I.N., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Drobot E.I., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Ryazanova O.S., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Matosova E.V., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Bynina M.P., Junior Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation;

Timchenko N.F., PhD, MD (Medicine), Professor, Leading Researcher, Laboratory of Molecular Microbiology, Somov Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Vladivostok, Russian Federation.