

doi 10.18699/vjgb-25-62

Генетический потенциал к образованию биопленок клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*

У.М. Немченко , Н.Л. Белькова  , Е.С. Клименко , Н.Е. Смурова , Р.Е. Зугеева , В.В. Синьков , Е.Д. Савилов 

Институт эпидемиологии и микробиологии, Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Россия

 nlbelkova@gmail.com

Аннотация. Бактерии вида *Pseudomonas aeruginosa* являются одной из ведущих причин нозокомиальных инфекций дыхательного тракта и играют важную роль в инфицировании нижних дыхательных путей у больных муковисцидозом (МВ). Биопленки, представляя собой организованные скопления клеток, обеспечивают выживаемость микроорганизмов в неблагоприятных условиях окружающей среды и способствуют хронизации инфекции и формированию персистирующих форм. Целью работы стало определение фенотипической способности и генетического потенциала к биопленкообразованию у клинических штаммов *P. aeruginosa*, персистирующих у пациентов с МВ на фоне постоянного приема антимикробных препаратов. Для характеристики пяти штаммов *P. aeruginosa*, полученных от пациентов с МВ, в работе применены бактериологические, молекулярно-генетические и биоинформатические методы. Фенотипически все штаммы отнесены к умеренно-образующим биопленку, при этом коэффициент биопленкообразования варьировал от 2.10 до 3.15. Анализ драфт-геномов выявил различия в представленности некоторых генов или отдельных локусов трех из четырех известных сигнальных путей, cAMP/Vfr, Gac/Rsm и c-di-GMP, которые описаны в геномах *P. aeruginosa* и имеют отношение к регуляции образования биопленок. Дополнительно показаны отличия в представленности таких генов, как *frzE*, *tcpE* и *rscC*. Несомненно интересен анализ генов *pppA*, *icmF*, *clpV1*, *trpE*, *trpG* и *stp1*, которые используются для расширенного мультилокусного типирования PubMLST и различаются по структуре локусов у всех проанализированных штаммов. Эти гены потенциально могут быть применены для типирования клинических штаммов *P. aeruginosa* с целью характеристики их биопленкообразующих свойств. Таким образом, в геномах клинических штаммов *P. aeruginosa*, длительно персистирующих у пациентов на фоне постоянного получения антибиотикотерапии, охарактеризованы гены, которые потенциально могут участвовать как в процессе биопленкообразования, так и в его регуляции. Характеристика генетического потенциала к образованию биопленок дает возможность поиска надежных генетических маркеров этого процесса для мониторинга эволюции возбудителя в результате длительной персистенции в организме хозяина.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*; муковисцидоз; биопленки; полногеномное секвенирование; сигнальные пути

Для цитирования: Немченко У.М., Белькова Н.Л., Клименко Е.С., Смурова Н.Е., Зугеева Р.Е., Синьков В.В., Савилов Е.Д. Генетический потенциал к образованию биопленок клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2025;29(4):594-599. doi 10.18699/vjgb-25-62

Финансирование. Работа выполнена в рамках поисковой технологии № 123051600027-1.

Genetic potential for biofilm formation of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*

U.M. Nemchenko , N.L. Belkova  , E.S. Klimenko , N.E. Smurova , R.E. Zugeeva , V.V. Sinkov , E.D. Savilov 

Institute of Epidemiology and Microbiology, Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

 nlbelkova@gmail.com

Abstract. *Pseudomonas aeruginosa* is one of the leading causes of nosocomial respiratory tract infections and plays an important role in lower respiratory tract infection in patients with cystic fibrosis (CF). Biofilms, which are organized cell clusters, ensure the survival of microorganisms in unfavorable environmental conditions and contribute to the chronicity of infection and the formation of persistent forms. The aim of this study was to determine the phenotypic ability and genetic potential for biofilm formation in clinical strains of *P. aeruginosa* persisting in patients with CF against the background of constant intake of antimicrobial drugs. Bacteriological, genetic, and bioinformatic methods were used to characterize five *P. aeruginosa* strains obtained from patients with CF. Phenotypically, all strains were classified as moderately biofilm-forming, while the biofilm formation coefficient varied from 2.10 to 3.15. Analysis of draft genomes revealed differences in the representation of some genes or individual loci of three of the four known signaling pathways (cAMP/Vfr, Gac/Rsm, and c-di-GMP) that have been described in *P. aeruginosa* genomes and are related to the regulation of biofilm formation. In addition, differences in the representation of genes such as *frzE*, *tcpE*, and *rscC* are

shown. Of undoubted interest is the analysis of genes such as *pppA*, *icmF*, *clpV1*, *trpE*, *trpG*, and *stp1*, which are used for extended multilocus typing PubMLST and differed in the structure of loci in all analyzed strains. These genes can be used to identify clinical strains of *P. aeruginosa* and to characterize their biofilm-forming properties. Thus, genes potentially participating in both biofilm formation and regulation have been characterized in the genomes of clinical *P. aeruginosa* strains that persist for a long time in patients receiving continuous antibiotic therapy. Characterization of the genetic potential for biofilm formation makes it possible to search for reliable genetic markers of this process in order to monitor the evolution of the pathogen as a result of long-term persistence in the host organism.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*; cystic fibrosis; biofilms; whole genome sequencing; signaling pathways

For citation: Nemchenko U.M., Belkova N.L., Klimenko E.S., Smurova N.E., Zugeeva R.E., Sinkov V.V., Savilov E.D. Genetic potential for biofilm formation of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(4):594-599. doi 10.18699/vjgb-25-62

Введение

Бактерии вида *Pseudomonas aeruginosa* являются одной из ведущих причин нозокомиальных инфекций дыхательного тракта и играют важную роль в инфицировании нижних дыхательных путей у больных муковисцидозом (МВ) (Parkins et al., 2018; Шагинян и др., 2019). Поверхностная колонизация и последующие образование и развитие биопленки дают инфекционным агентам многочисленные преимущества. Представляя собой организованные скопления клеток, заключенных в полисахаридный матрикс и защищенных от неблагоприятных условий окружающей среды, в том числе противомикробных препаратов, дезинфицирующих и антисептических средств биопленки обеспечивают выживаемость микроорганизмов. Такая структурная организация способствует повышению гетерогенности бактериальной популяции и отбору клеток, препятствующих повреждающим воздействиям путем приобретения и накопления генетических мутаций. Именно поэтому биопленкообразующие микроорганизмы – это значимый фактор, способствующий хронизации инфекции и формированию персистирующих форм (Pepesyan et al., 2021).

При рассмотрении патогенетического потенциала, который реализуется у *P. aeruginosa* в биопленочном состоянии у пациентов с МВ, следует отметить толерантность бактериальных клеток не только к антимикробным препаратам, дезинфицирующим и антисептическим средствам, но и к факторам врожденной и адаптивной защитной системы организма (Jurado-Martín et al., 2021; Fernández-Billón et al., 2023). В ответ на анаэробные условия, конкуренцию за ресурсы, высокие концентрации антибиотиков и иммунные реакции организма, такие как атаки нейтрофилов, реализуемые в легких при МВ, *P. aeruginosa* претерпевает микроэволюцию, приобретая спонтанные мутации, которые приводят к отбору клеток, лучше выживающих при длительной колонизации (Winstanley et al., 2016; Jurado-Martín et al., 2021). В экспериментальных исследованиях была показана способность *P. aeruginosa* образовывать биопленочные структуры в мокроте пациентов с МВ (Bjarnsholt et al., 2009), что является решающим фактором выживания и толерантности к антибиотикам, а невозможность полностью элиминировать бактерии напрямую связана с хронизацией инфекции (Elfadadny et al., 2024). Понимание механизмов адаптации и эволюции патогена во время хронических респираторных инфекций при МВ может стать ключом к поиску новых методов лечения инфекций *P. aeruginosa*.

Современные технологии секвенирования позволяют проводить анализ полных геномов условно-патогенных микроорганизмов не только для их типирования, но и для выявления молекулярных маркеров, потенциально значимых для инфекционного агента. В настоящее время на платформе KEGG PATHWAY Database создана карта основных сигнальных путей, охарактеризованных в геномах *P. aeruginosa* и имеющих отношение к регуляции образования биопленок (PATHWAY: ko02025; https://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ko02025). Карта ko02025 содержит информацию о 90 локусах, включенных в четыре основных сигнальных пути: путь цАМФ/Vfr, системы чувство кворума (англ. quorum sensing, QS), путь Gac/Rsm и сигнальный путь c-di-GMP.

Цель работы – определение фенотипической способности и генетического потенциала к биопленкообразованию у клинических штаммов *P. aeruginosa*, персистирующих у пациентов с МВ на фоне постоянного приема антимикробных препаратов.

Материалы и методы

Объектами исследования стали пять клинических штаммов *P. aeruginosa* из рабочей коллекции лаборатории микробиома и микрoэкологии Института эпидемиологии и микробиологии НЦ ПЗСРЧ. Штаммы выделены из мокроты от пациентов с МВ, проходивших лечение в ОГАУЗ Городская Ивано-Матренинская детская клиническая больница (г. Иркутск, Россия) и длительно получавших антибиотикотерапию. Идентификация штаммов проведена на основании морфо-биохимических тестов и подтверждена масс-спектрометрическим анализом (Немченко и др., 2022). Чувствительность к антимикробным препаратам определяли согласно критериям EUCAST (Немченко и др., 2024).

Способность штаммов к образованию биопленок (БП) изучали с помощью планшетного метода G.A. O'Toole (2011), с собственными модификациями (Немченко и др., 2020; Ситникова и др., 2022). Кратко: определение способности культур образовывать БП проводили с использованием 96-луночного стерильного плоскодонного пластикового иммунологического планшета. Суточную культуру бактерий стандартизировали в стерильном мяско-пептонном бульоне (МПБ) до 1×10^6 КОЕ/мл. Взвесь культур и контроль инокулировали по 150 мкл в лунку планшета в четырех повторностях. Контролем фона служил стерильный МПБ. Планшет инкубировали в суховоздушном термостате 18–20 ч при 37 °C. Окраску

Таблица 1. Краткие результаты сборки и аннотации геномов штаммов *P. aeruginosa*

Показатель	ИМБ101	ИМБ105	ИМБ103	ИМБ100	ИМБ104
Сборка геномов					
Число прочтений	12 369 102	13 477 896	3 737 929	36 044 976	14 328 761
Число контигов	121	274	278	258	487
N50	255 738	298 770	550 311	65 489	238 191
Покрытие	279	686	592	1500	179
Аннотация геномов					
GC, %	66	66	66	66	65
Число CDS	5895	5874	5910	5548	5935

био пленок выполняли по модифицированному методу G.A. O’Toole: планктонные клетки удаляли пипетированием, трехкратно промывали планшет стерильным физиологическим раствором, высушивали в течение 10–15 мин без крышки, окрашивали био пленки 1 % генцианвиолетом с последующей спиртовой экстракцией согласно методике (O’Toole, 2011). Биомассу сформированных пленок оценивали по оптической плотности (ОП) полученных экстрактов красителя генцианфиолетового при 492 нм (спектрофотометр STAT FAX®4300, США). Коэффициент био пленкообразования (КБП) рассчитывали как отношение A492эксп/A492контроль. Считали, что при значениях КБП ≤ 2 единицы штаммы относились к слабообразующим БП; при КБП от 2 до 3.99 – обладали умеренной способностью к образованию БП (Немченко и др., 2020; Григорова и др., 2021).

Полногеномное секвенирование. Геномную ДНК выделяли набором Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit (Zymo Research, США). Полногеномное секвенирование штаммов проводили на оборудовании Illumina NextSeq 550 с использованием наборов реагентов для приготовления библиотек Illumina® DNA Prep Tagmentation, IDT® for Illumina® DNA/RNA UD Indexes Set Tagmentation и NextSeq 500/550 High Output Kit v2.5 (300 Cycles) согласно рекомендациям производителя.

Биоинформатический анализ. Сборку геномов проводили с использованием программы SPAdes v3.11.1 (Bankevich et al., 2012). Упорядочивание контигов и коррекцию их ориентации выполняли с помощью MAUVE 2.4.0 (Rissman et al., 2009) и референсного генома *P. aeruginosa* PAO1 (GenBank AE004091.2) (табл. 1). Функциональную аннотацию осуществляли с использованием Prokka 1.14.6 (Seemann, 2014). Поиск генов, участвующих в био пленкообразовании, проводили с помощью базы данных KEGG (Kanehisa et al., 2022), PubMLST (Jolley et al., 2018). Полные геномы штаммов, полученные в работе, депонированы в базу данных NCBI, проект PRJNA1026796.

Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ ИЦ ПЗСРЧ (г. Иркутск).

Результаты

В работе проанализировано пять клинических штаммов *P. aeruginosa*, изолированных от пациентов с МВ, дли-

тельно получавших антибиотикотерапию. Фенотипически все штаммы отнесены к умеренно-образующим био пленку, при этом КБП варьировал от 2.10 до 3.15 (табл. 2). Минимальное значение КБП определено для штамма ИМБ101, максимальные – для ИМБ100 и ИМБ104 – 3.11 и 3.15 соответственно.

Для всех штаммов осуществлено полногеномное секвенирование. Основная задача настоящего исследования заключалась в поиске генов, которые потенциально могут участвовать как в процессе био пленкообразования, так и в его регуляции. Для рутинного поиска применяли карту ko02025 (KEGG PATHWAY Database). Дополнительно анализировали локусы, используемые в типировании штаммов вида *P. aeruginosa* на платформе PubMLST (Jolley et al., 2018), и вручную выполняли поиск генов, для которых ранее было показано участие в процессе био пленкообразования или его регуляции (Thelin, Taylor, 1996; Kearns, Shinkets, 1998; Wall et al., 2018).

Нами обнаружено, что все тестируемые гены локализованы в хромосомной ДНК. Различия между геномами исследованных штаммов найдены в наличии или отсутствии некоторых генов или в представленности локусов трех сигнальных путей: цАМФ/Vfr, Gac/Rsm и c-di-GMP (см. табл. 2). Дополнительный поиск генов, участвующих в био пленкообразовании, позволил выявить различия в наличии или отсутствии генов, преимущественно участвующих в регуляторных процессах: *frzE* (gliding motility regulatory protein – белок, регулирующий скользящую подвижность), *tcpE* (toxin coregulated pilus biosynthesis protein E – токсин-корегулируемый белок биосинтеза пилей E) и *rcsC* (sensor histidine kinase RcsC – сенсорная гистидинкиназа RcsC) (см. табл. 2). Наибольший интерес представляют гены, которые не только участвуют в сигнальных путях, согласно карте ko02025 (KEGG PATHWAY Database), но и используются для расширенного мультилокусного типирования PubMLST (табл. 3).

Для генов *hcp1* и *gacA* показана полная идентичность в геномах исследованных штаммов. Такие гены, как *ppkA*, *fha1*, *gacS*, не идентифицированы в штамме ИМБ100, который показал достаточно высокий коэффициент био пленкообразования (3.11). Следует отметить отсутствие гена *retS* в геномах штаммов ИМБ103 и ИМБ105, имеющих коэффициент био пленкообразования 2.91 и 2.50 соответственно. Несомненный интерес представляет анализ генов *pppA*, *icmF*, *clpV1*, *trpE*, *trpG* и *stp1*, которые различались по структуре локусов у всех проанализированных

Таблица 2. Фенотипическая характеристика и генетический потенциал исследуемых штаммов *P. aeruginosa* к биопленкообразованию

Показатель	ИМБ101	ИМБ105	ИМБ103	ИМБ100	ИМБ104
Коэффициент биопленкообразования	2.10	2.50	2.91	3.11	3.15
Путь цАМФ/Vfr					
<i>pil</i> ; twitching motility proteins	<i>pilT/Y/Q</i>	<i>pilT/Y/Q/A</i>	<i>pilT/Y/Q/A</i>	<i>pilT/Y/Q</i>	<i>pilT/Y/Q/A</i>
<i>cyuA</i> ; adenylate cyclase	–	–	+	–	–
Путь Gac/Rsm					
<i>hcpA</i> ; secreted protein Hcp	–	–	–	1–3	–
<i>hcpC</i> ; secreted protein Hcp	1	–	–	–	–
Сигнальный путь c-di-GMP					
<i>wbp</i> ; phosphomannose isomerase/ mannose-1-phosphate guanylyl transferase	<i>wbpABDEI</i>	<i>wbpA</i>	<i>wbpA</i>	–	–
Дополнительные гены, потенциально участвующие в биопленкообразовании, не включенные в карту ko02025					
<i>frzE</i> ; gliding motility regulatory protein	–	–	–	+	–
<i>tcpE</i> ; toxin coregulated pilus biosynthesis protein E	+	–	+	–	+
<i>rcsC</i> ; sensor histidine kinase RcsC	1–15	1–15	1–15	1–13	1–14

Примечание. Цифрами обозначено количество вариантов генов *hcpA*, *hcpC* и *rcsC* согласно аннотации геномов с помощью Prokka 1.14.6 (Seemann, 2014).

Таблица 3. Описание локусов, определенных в геномах исследуемых штаммов *P. aeruginosa*, для генов, используемых для расширенного MLST-типирования (PubMLST) и включенных в карту ko02025

Ген, синтезируемый белок	ИМБ101	ИМБ105	ИМБ103	ИМБ100	ИМБ104
Путь Gac/Rsm					
<i>hcp1</i> , protein secretion apparatus assembly protein	1	1	1	1	1
<i>pppA</i> , serine/threonine phosphatase	9	4	3	4	16
<i>icmF1</i> , type VI secretion protein IcmF	72	5	19	120	39
<i>clpV1</i> , secretion protein ClpV1	67	176	22	113	120
<i>ppkA</i> , serine/threonine protein kinase PpkA	44	187	113	–	138
<i>fha1</i> , Fha domain-containing protein	127	6	26	–	326
<i>gacA</i> , response regulator GacA	3	3	3	3	3
<i>gacS</i> , sensor/response regulator hybrid protein	59	487	18	–	24
<i>retS</i> , sensor histidine kinase MifS	59	–	–	108	154
QS системы					
<i>trpE</i> , anthranilate synthase component I	58	5	14	5	116
<i>trpG</i> , anthranilate synthase component II	1	48	12	27	72
<i>stp1</i> , serine/threonine phosphoprotein phosphatase Stp1	34	82	4	13	70

штаммов. Эти гены потенциально могут быть использованы для типирования клинических штаммов *P. aeruginosa* с целью характеристики их биопленкообразующих свойств.

Обсуждение

P. aeruginosa – это условно-патогенная бактерия, вызывающая инфекции у людей с нарушенным иммунитетом или страдающих МБ. Инфицирование *P. aeruginosa* у пациентов с МБ проходит в форме острой инфекции, которая впоследствии развивается в хроническое респи-

раторное заболевание. Было высказано предположение, что с двумя стадиями инфекции связаны два разных взаимоисключающих набора факторов вирулентности (Brensic, Lory, 2009). Считают, что система секреции типа III (T3SS) и гены пилей типа IV связаны с острым заболеванием, в то время как система секреции типа VI (T6SS) HSI-I и образование биопленки важны во время хронической инфекции (Deretic et al., 1995; Brensic, Lory, 2009). В настоящее время идет активный поиск генов, экспрессирующихся на разных стадиях жизни бактериальных

патогенов, которые могут быть биомаркерами перехода из острой в хроническую форму инфекции и наоборот (Cao et al., 2023).

В настоящей работе проведен анализ фенотипических и генетических свойств штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с МВ на фоне постоянного приема антибактериальных препаратов. Все штаммы определены как умеренно-образующие биопленки, но в их геномах найдены отличия в наличии/отсутствии некоторых генов или в локусах сигнальных путей, которые охарактеризованы в геномах клинических штаммов *P. aeruginosa* и имеют отношение как к формированию биопленок, так и к регуляции этого процесса. Несомненный интерес для поиска генетических маркеров определенного фенотипа, ассоциированного с формированием биопленочных структур, могут представлять гены, которые используются для расширенного мультилокусного типирования PubMLST и отвечают за отдельные стадии процесса формирования биопленок или его регуляции. В наших исследованиях мы определили 12 таких генов, при этом 9 из них относятся к сигнальному пути Gac/Rsm, а 3 – к системам QS.

Двухкомпонентная система GacS/GacA стимулирует экспрессию двух малых регуляторных РНК, RsmY и RsmZ, которые в свою очередь регулируют трансляционный репрессор RsmA. Члены семейства RsmA/CsrA были идентифицированы в геномах многих грамотрицательных бактериях, включая *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *Escherichia coli*, некоторые виды *Salmonella*, *Legionella*, *Proteus*, *Helicobacter* и *Erwinia*, где они были вовлечены в регуляцию таких фенотипов, как вирулентность, подвижность, системы QS, и реакции на стресс (Brenner, Lory, 2009).

Системы QS – это форма межклеточной коммуникации бактерий, используемая многими видами для определения плотности популяции и координации экспрессии генов (Coggan, Wolfgang, 2012). Система QS достигается путем продукции сигнальных молекул, называемых аутоиндукторами, таким образом, что увеличение плотности бактериальной популяции приводит к их накоплению. После достижения пороговой концентрации аутоиндукторы связывают свои родственные рецепторы, которые напрямую или косвенно активируют экспрессию генов. В геномах *P. aeruginosa* кодируется три системы QS: две сигнальные системы на основе N-ацил-гомосеринлактона (AHL) и сигнальная система на основе 2-алкил-4-хинолона (AQ). Эти системы QS участвуют в регуляции продукции факторов вирулентности, созревании биопленки и фенотипах подвижности (Coggan, Wolfgang, 2012).

Следует отметить, что исследования транскрипционных профилей разных клинических штаммов *P. aeruginosa*, выращенных в планктонных и биопленочных условиях, показали, что транскрипционные профили, выявленные в планктонных условиях роста, были довольно схожи, более расходящиеся транскрипционные профили были зарегистрированы, когда изоляты выращивались в биопленочных условиях (Thöming et al., 2020). В модельных экспериментах показано, что различные группы клинических изолятов следуют параллельным эволюционным путям и производят схожие фенотипы. Эта конвергенция фенотипов организмов наблюдалась для множества признаков, включающих формирование различных структур

биопленки, характеризующихся специфическими транскрипционными сигнатурами, а также фенотипами вирулентности и подвижности (Thöming et al., 2020).

Можно предполагать, что, несмотря на разные сиквенс-типы, идентифицируемые у пациентов с МВ, переход в персистирующую форму при хронизации инфекции *P. aeruginosa* будет не просто стимулировать экспрессию определенных генов для создания определенного фенотипа патогена, но и формировать соответствующий генотип, реализуя потенциал генетической гетерогенности бактериальной популяции. Нужно также отметить, что гены, для которых показано участие в образовании биопленок или регуляции этого процесса (согласно карте ko02025), используются для расширенного мультилокусного типирования PubMLST и могут быть задействованы для типирования клинических штаммов *P. aeruginosa* с целью характеристики их биопленкообразующих свойств.

Заключение

В геномах клинических штаммов *P. aeruginosa*, длительно персистирующих у пациентов с МВ на фоне постоянного получения антибиотикотерапии, выявлены гены, которые потенциально могут участвовать как в процессе биопленкообразования, так и в его регуляции. Характеристика генетического потенциала к образованию биопленок дает возможность поиска надежных генетических маркеров этого процесса для мониторинга эволюции возбудителя в результате длительной персистенции в организме хозяина.

Список литературы / References

- Григорова Е.В., Немченко У.М., Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Носкова О.А., Савилов Е.Д. Биопленкообразование под воздействием дезинфицирующих средств с разным активным компонентом у *Pseudomonas aeruginosa*. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2021;171(6):733-738. doi 10.47056/0365-9615-2021-171-6-733-738
- [Grigorova E.V., Nemchenko U.M., Voropaeva N.M., Belkova N.L., Noskova O.A., Savilov E.D. Effect of disinfectants with different active ingredients on biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Bull Exp Biol Med*. 2021;171(6):745-749. doi 10.1007/s10517-021-05308-y]
- Немченко У.М., Кунгурцева Е.А., Григорова Е.В., Белькова Н.Л., Маркова Ю.А., Носкова О.А., Чemezova Н.Н., Савилов Е.Д. Моделирование бактериальных биопленок и оценка чувствительности возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к дезинфицирующему средству Секусепт актив. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2020;65(10):652-658. doi 10.18821/0869-2084-2020-65-10-652-658
- [Nemchenko U.M., Kungurtseva E.A., Grigorova E.V., Belkova N.L., Markova Yu.A., Noskova O.A., Chemezova N.N., Savilov E.D. Simulation of bacterial biofilms and estimation of the sensitivity of healthcare-associated infection pathogens to bactericide Sekusept active. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika = Russian Clinical Laboratory Diagnostics*. 2020;65(10):652-658. doi 10.18821/0869-2084-2020-65-10-652-658 (in Russian)]
- Немченко У.М., Ситникова К.О., Белькова Н.Л., Григорова Е.В., Воропаева Н.М., Сухорева М.В., Сухарева Е.С., Савилов Е.Д. Влияние антимикробных препаратов на биопленкообразование *Pseudomonas aeruginosa*. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2022;26(5):495-501. doi 10.18699/VJGB-22-60
- [Nemchenko U.M., Sitnikova K.O., Belkova N.L., Grigorova E.V., Voropaeva N.M., Sukhoreva M.V., Sukhareva E.S., Savilov E.D. Effects of antimicrobials on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm for-

- mation. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii* = *Vavilov J. Genet. Breed.* 2022;26(5):495-501. doi 10.18699/VJGB-22-60]
- Немченко У.М., Белькова Н.Л., Клименко Е.С., Смурова Н.Е., Савилов Е.Д. Фенотипическая и генетическая изменчивость клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, персистирующих у пациентов с муковисцидозом. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2024;26(S1):42 [Nemchenko U.M., Belkova N.L., Klimenko E.S., Smurova N.E., Savilov E.D. Phenotypic and genetic variability of clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* persisting in patients with cystic fibrosis. *Klinicheskaa Mikrobiologia i Antimikrobnaa Himioterapiya* = *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2024;26(S1):42 (in Russian)]
- Ситникова К.О., Немченко У.М., Воропаева Н.М., Григорова Е.В., Савилов Е.Д., Маркова Ю.А., Белькова Н.Л. Динамика образования биопленок клинически значимыми штаммами условно-патогенных бактерий. *Acta Biomedica Scientifica*. 2022;7(5-1):119-128. doi 10.29413/ABS.2022-7.5-1.13 [Sitnikova K.O., Nemchenko U.M., Voropaeva N.M., Grigорова E.V., Savilov E.D., Markova Yu.A., Belkova N.L. The effectiveness of biofilm formation of daily cultures of clinically significant strains of opportunistic bacteria. *Acta Biomedica Scientifica*. 2022;7(5-1):119-128. doi 10.29413/ABS.2022-7.5-1.13 (in Russian)]
- Шагинян И.А., Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Сиянова Е.А., Бурмистров Е.М., Воронкова А.Ю., Кондратьева Е.И., Чучалин А.Г., Гинцбург А.Л. Эпидемиологическая значимость молекулярной изменчивости генома изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, вызывающих хроническую инфекцию легких у больных муковисцидозом. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(4):340-351. doi 10.36488/cm.2019.4.340-351 [Shaginyan I.A., Avetisyan L.R., Chernukha M.Yu., Siyanova E.A., Burmistrov E.M., Voronkova A.Yu., Kondratieva E.I., Chuchalin A.G., Gintzburg A.L. Epidemiological significance of genome variations in *Pseudomonas aeruginosa* causing chronic lung infection in patients with cystic fibrosis. *Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Himioterapiya* = *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;21(4):340-351. doi 10.36488/cm.2019.4.340-351 (in Russian)]
- Bankovich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A.A., Dvorkin M., Kulikov A.S., Lesin V.M., ... Sirotkin A.V., Vyahhi N., Tesler G., Alekseyev M.A., Pevzner P.A. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol*. 2012;19(5):455-477. doi 10.1089/cmb.2012.0021
- Bjarnsholt T., Jensen P.Ø., Fiandaca M.J., Pedersen J., Hansen C.R., Andersen C.B., Pressler T., Givskov M., Høiby N. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms in the respiratory tract of cystic fibrosis patients. *Pediatr Pulmonol*. 2009;44(6):547-558. doi 10.1002/ppul.21011
- Brenci A., Lory S. Determination of the regulon and identification of novel mRNA targets of *Pseudomonas aeruginosa* RsmA. *Mol Microbiol*. 2009;72(3):612-632. doi 10.1111/j.1365-2958.2009.06670.x
- Cao P., Fleming D., Moustafa D.A., Dolan S.K., Szymanik K.H., Redman W.K., Ramos A., Diggle F.L., Sullivan C.S., Goldberg J.B., Rumbaugh K.P., Whiteley M. A *Pseudomonas aeruginosa* small RNA regulates chronic and acute infection. *Nature*. 2023;618(7964):358-364. doi 10.1038/s41586-023-06111-7
- Coggan K.A., Wolfgang M.C. Global regulatory pathways and cross-talk control *Pseudomonas aeruginosa* environmental lifestyle and virulence phenotype. *Curr Issues Mol Biol*. 2012;14(2):47-70. doi 10.21775/cimb.014.047
- Deretic V., Schurr M.J., Yu H. *Pseudomonas aeruginosa*, mucoidy and the chronic infection phenotype in cystic fibrosis. *Trends Microbiol*. 1995;3(9):351-356. doi 10.1016/s0966-842x(00)88974-x
- Elfadadny A., Ragab R.F., AlHarbi M., Badshah F., Ibáñez-Arancibia E., Farag A., Hendawy A.O., De Los Ríos-Escalante P.R., Aboubakr M., Zakai S.A., Nageeb W.M. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. *Front Microbiol*. 2024;15:1374466. doi 10.3389/fmicb.2024.1374466
- Fernández-Billón M., Llambías-Cabot A.E., Jordana-Lluch E., Oliver A., Macià M.D. Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Biofilm*. 2023;5:100129. doi 10.1016/j.biofilm.2023.100129
- Jolley K.A., Bray J.E., Maiden M.C.J. Open-access bacterial population genomics: BIGSdb software, the PubMLST.org website and their applications. *Wellcome Open Res*. 2018;3:124. doi 10.12688/wellcomeopenres.14826.1
- Jurado-Martin I., Sainz-Mejias M., McClean S. *Pseudomonas aeruginosa*: an audacious pathogen with an adaptable arsenal of virulence factors. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6):3128. doi 10.3390/ijms22063128
- Kanehisa M., Sato Y., Kawashima M. KEGG mapping tools for uncovering hidden features in biological data. *Protein Sci*. 2022;31(1):47-53. doi 10.1002/pro.4172
- Kearns D.B., Shimkets L.J. Chemotaxis in a gliding bacterium. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95(20):11957-11962. doi 10.1073/pnas.95.20.11957
- O'Toole G.A. Microtiter dish biofilm formation assay. *J Vis Exp*. 2011;30(47):2437. doi 10.3791/2437
- Parkins M.D., Somayaji R., Waters V.J. Epidemiology, biology, and impact of clonal *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis. *Clin Microbiol Rev*. 2018;31(4):e00019-18. doi 10.1128/cmr.00019-18
- Penesyan A., Paulsen I.T., Kjelleberg S. Three faces of biofilms: a microbial lifestyle, a nascent multicellular organism, and an incubator for diversity. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2021;7(1):80. doi 10.1038/s41522-021-00251-2
- Rissman A.I., Mau B., Biehl B.S., Darling A.E., Glasner J.D., Perna N.T. Reordering contigs of draft genomes using the Mauve Aligner. *Bioinformatics*. 2009;25(16):2071-2073. doi 10.1093/bioinformatics/btp356
- Seemann T. Prokka: rapid prokaryotic genome annotation. *Bioinformatics*. 2014;30(14):2068-2069. doi 10.1093/bioinformatics/btu153
- Thelin K.H., Taylor R.K. Toxin-coregulated pilus, but not mannose-sensitive hemagglutinin, is required for colonization by *Vibrio cholerae* O1 El Tor biotype and O139 strains. *Infect Immun*. 1996;64(7):2853-2856. doi 10.1128/iai.64.7.2853-2856.1996
- Thöming J.G., Tomasch J., Preusse M., Koska M., Grahl N., Pohl S., Willger S.D., Kaefer V., Müschen M., Häussler S. Parallel evolutionary paths to produce more than one *Pseudomonas aeruginosa* biofilm phenotype. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2020;6:2. doi 10.1038/s41522-019-0113-6
- Wall E., Majdalani N., Gottesman S. The complex Rcs regulatory cascade. *Annu Rev Microbiol*. 2018;72:111-139. doi 10.1146/annurev-micro-090817-062640
- Winstanley C., O'Brien S., Brockhurst M.A. *Pseudomonas aeruginosa* evolutionary adaptation and diversification in cystic fibrosis chronic lung infections. *Trends Microbiol*. 2016;24:327-337. doi 10.1016/j.tim.2016.01.008

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 08.11.2024. После доработки 17.01.2025. Принята к публикации 14.02.2025.