

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2020

Афонюшкин В.Н.<sup>1</sup>, Донченко Н.А.<sup>1</sup>, Козлова Ю.Н.<sup>2</sup>, Давыдова Н.В.<sup>1</sup>, Коптев В.Ю.<sup>1</sup>, Черепушкина В.С.<sup>1</sup>

## Роль биоплёнок в адаптации микроорганизмов к неблагоприятным факторам окружающей среды на примере *Pseudomonas aeruginosa* (обзор литературы)

<sup>1</sup>ФГБУН «Сибирский федеральный центр агроботехнологий Российской академии наук», 630501, Новосибирская область, п. Краснообск;

<sup>2</sup>ФГБУН «Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН», 630090, Новосибирск

*Pseudomonas aeruginosa* – широко представленный вид бактерий, обладающий патогенным потенциалом. Данный инфекционный агент является возбудителем раневых инфекций, фиброзного цистита, фиброзирующей пневмонии, бактериального сепсиса и других патологий. Микроорганизм отличается высокой устойчивостью к антисептикам и дезинфектантам, а также специфическим реакциям иммунной системы организма. Реакции чувства кворума данного вида бактерий обеспечивают включение многих факторов патогенности. Одним из важных особенностей синегнойной палочки является её способность к образованию биоплёнок (в качестве одной из реакций чувства кворума), что считается одним из факторов устойчивости к антибиотикам и антисептикам. Анализ научной литературы позволил сформулировать четыре вопроса, касающихся роли биоплёнок для адаптации *P. aeruginosa* к неблагоприятным факторам окружающей среды. Является ли источником заражения *P. aeruginosa* другой человек или преимущественно этиологический агент находится в окружающей среде? Оказывает ли влияние на антибиотикорезистентность образование биоплёнки? Каким образом реализуется антагонистическая активность микроорганизмов в биоплёночной форме? Какова основная функция биоплёнок в функционировании бактерий? Авторами была выдвинута гипотеза о том, что влияние биоплёнки на повышение антибиотикорезистентности бактерий и, в частности, *P. aeruginosa*, носит вторичный характер. Вызывает сомнение, что биоплёнка сама по себе способна выполнять барьерную функцию, защищающую от антибиотиков, как минимум ввиду несопоставимости молекулярных радиусов большинства антибиотиков и пор в биоплёнке. Однако барьерная функция в отношении антител и иммунокомпетентных клеток не вызывает сомнений. Более вероятно, что биоплёнка выполняет функцию запасаания питательных веществ и обеспечения топической конкуренции в условиях дефицита пищевых ресурсов.

**К л ю ч е в ы е с л о в а :** *Pseudomonas aeruginosa*; биоплёнки; чувство кворума; антагонизм; экология микробных сообществ; эпидемиология; обзор.

**Для цитирования:** Афонюшкин В.Н., Донченко Н.А., Козлова Ю.Н., Давыдова Н.В., Коптев В.Ю., Черепушкина В.С. Роль биоплёнок в адаптации микроорганизмов к неблагоприятным факторам окружающей среды на примере *Pseudomonas aeruginosa* (обзор литературы). Гигиена и санитария. 2020; 99 (4): 379–383. DOI: <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-4-379-383>

**Для корреспонденции:** Афонюшкин Василий Николаевич, кандидат биол. наук, зав. сектором молекулярной биологии СФНЦА РАН, 630501, Новосибирская область, п. Краснообск. E-mail: [lisocim@mail.ru](mailto:lisocim@mail.ru)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Работа выполнена при частичной поддержке гранта РФФИ проект № А 18-016-00045.

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования, редактирование статьи, ответственность за целостность всех частей статьи – Афонюшкин В.Н., Донченко Н.А., Козлова Ю.Н.; редактирование статьи, утверждение окончательного варианта статьи – все соавторы.

Поступила: 25.10.2018

Принята к печати: 25.04.2019

Опубликована: 26.05.2020

Afonyushkin V.N.<sup>1</sup>, Donchenko N.A.<sup>1</sup>, Kozlova Ju.N.<sup>2</sup>, Davidova N.A.<sup>1</sup>, Koptev V.Yu.<sup>1</sup>, Cherepushkina V.S.<sup>1</sup>

## Questions on the role of biofilms for the adaptation of microorganisms to unfavorable environmental factors by the example of *P. aeruginosa*

<sup>1</sup>Siberian Federal Research Center for Agrobiotechnology, Krasnoobsk, 630501, box 708, Russian Federation;

<sup>2</sup>Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine SB RAS, Novosibirsk, 630090, Russian Federation

*Pseudomonas aeruginosa* is a widely represented species of bacteria possessing of a pathogenic potential. This infectious agent is causing wound infections, fibrotic cystitis, fibrosing pneumonia, bacterial sepsis, etc. The microorganism is highly resistant to antiseptics, disinfectants, immune system responses of the body. The responses of a quorum sense of this kind of bacteria ensure the inclusion of many pathogenicity factors. The analysis of the scientific literature made it possible to formulate four questions concerning the role of biofilms for the adaptation of *P. aeruginosa* to adverse environmental factors: Is another person appears to be predominantly of a source an etiological agent or the source of *P. aeruginosa* infection in the environment? Does the formation of biofilms influence on the antibiotic resistance? How the antagonistic activity of microorganisms is realized in biofilm form? What is the main function of biofilms in the functioning of bacteria? A hypothesis has been put forward the effect of biofilms on the increase of antibiotic resistance of bacteria and, in particular, *P. aeruginosa* to be secondary in character. It is more likely a biofilm both to fulfill the function of storing nutrients and provide topical competition in the face of food scarcity. In connection with the incompatibility of the molecular radii of most antibiotics and pores in biofilm, biofilm is doubtful to be capable of performing a barrier function for protecting against antibiotics. However, with respect to antibodies and immunocompetent cells,

*the barrier function is beyond doubt. The biofilm is more likely to fulfill the function of storing nutrients and providing topical competition in conditions of scarcity of food resources.*

*К е у в о р д с :* *Pseudomonas aeruginosa*; biofilms; quorum sense; antagonism; ecology of microbial communities; epidemiology; review.

**For citation:** Afonyushkin V.N., Donchenko N.A., Kozlova Ju.N., Davidova N.A., Koptev V.Yu., Cherepushkina V.S. Questions on the role of biofilms for the adaptation of microorganisms to unfavorable environmental factors by the example of *P. aeruginosa*. *Gigiena i Sanitaria (Hygiene and Sanitation, Russian journal)*. 2020; 99(4): 379-383. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.33029/0016-9900-2020-99-4-379-383>

**For correspondence:** Vasily N. Afonyushkin, MD, Ph.D., head of the department of molecular biology Siberian Institute of experimental veterinary science of Siberia and the Far East Siberian Federal Research Center for Agrobiotechnology of the Russian Academy of Sciences, Krasnoobsk, 630501, box 708, Russian Federation. E-mail: [lisocim@mail.ru](mailto:lisocim@mail.ru)

#### Information about the authors:

Afonyushkin V.N., <https://orcid.org/0000-0001-5177-4733>; Donchenko N.A., <https://orcid.org/0000-0002-0885-0515>; Kozlova Yu.N., <https://orcid.org/0000-0003-0811-8110>; Davidova N.V., <https://orcid.org/0000-0002-4831-2957>; Koptev V.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-0537-6659>; Cherepushkina V.S., <https://orcid.org/0000-0002-3378-7335>

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgment.** The work was partially supported by a grant from the RFBR project no. a 18-016-00045.

**Contribution:** research concept and design, editing – Afonyushkin V.N., Donchenko N.A., Kozlova Ju.N.; Approval of the final version of the manuscript, responsibility for the integrity of all parts of the manuscript – all co-authors.

Received: October 10, 2018

Accepted: April 25, 2019

Published: May 26, 2020

*P. aeruginosa* (синегнойная палочка, СГП) — широко представленный вид (убиквитарный), обладающий патогенным потенциалом. Данный инфекционный агент является возбудителем раневых инфекций, фиброзного цистита, фиброзирующей пневмонии, бактериального сепсиса [1–3]. Микроорганизм отличается высокой устойчивостью к анти-септикам, дезинфектантам, реакциям иммунной системы организма. Реакции чувства кворума данного вида бактерий обеспечивают включение многих факторов патогенности [4].

Между медицинскими специалистами и биологами до сих пор идут споры об экологии и эпидемиологии синегнойной инфекции [5]. С одной стороны, СГП можно рассматривать в качестве возбудителя сапроноза — частота инфекционных процессов, антибиотикорезистентность микроорганизмов и характер течения инфекций должны определяться особенностями экологии инфекционного агента в окружающей среде. С другой стороны — в рассуждениях о госпитальных инфекциях этот инфекционный агент рассматривается в качестве классического инфекционного агента, передающегося от человека к человеку через объекты окружающей среды [6–9]. Одной из важных особенностей синегнойной палочки является её способность к образованию биоплёнок (в качестве одной из реакций чувства кворума), образование биоплёнок считается одним из факторов устойчивости к антибиотикам (что, на наш взгляд, является весьма дискуссионным утверждением) и антисептикам. Также биоплёнки препятствуют фагоцитозу (при нахождении синегнойной палочки в организме и работе гуморального иммунитета). Подавление некоторых реакций кворум-сенсинга синегнойной палочки в объектах окружающей среды и в организме человека и животных может являться важным фактором, снижающим риск развития госпитальных инфекций, хронических инфекций, плохо поддающихся антибиотикотерапии [10–14]. Подавление роста самой синегнойной палочки не менее важно, чем образование ею биоплёнок.

Целью данного обзора является анализ роли биоплёнкообразования и иных реакций чувства кворума в формировании клинически значимых характеристик *P. aeruginosa*.

Анализ научной литературы позволил поставить нам несколько вопросов, посвященных биоплёнкообразованию и реакциям чувства кворума, в частности применительно к *P. aeruginosa*. На наш взгляд, окончательной проработки этих вопросов в научной литературе нет.

**Вопрос 1.** Каким образом происходит заражение синегнойной палочкой людей и животных? Является ли источником заражения *P. aeruginosa* другой человек или преимущественно этиологический агент находится в окружающей среде?

Между медицинскими специалистами и биологами до сих пор идут споры об экологии и эпидемиологии синегнойной инфекции. С одной стороны, СГП можно рассматривать в качестве возбудителя сапроноза, и частота инфекционных процессов, антибиотикорезистентность микроорганизмов и характер течения инфекций должны определяться особенностями экологии инфекционного агента в окружающей среде. С другой стороны — в рассуждениях о госпитальных инфекциях этот инфекционный агент рассматривается в качестве классического инфекционного агента, передающегося от человека к человеку через объекты окружающей среды.

Проблема накопления *P. aeruginosa* и других возбудителей сапронозов в больницах, инкубаторах, животноводческих помещениях, биотехнологических предприятиях, на наш взгляд, состоит из нескольких частей:

1. Активное подавление сапрофитов, сужение биоразнообразия микробных сообществ в больницах сокращает число бактерий-антагонистов, продуцентов бактериофагов и уменьшает трофическую и топическую конкуренцию микробиоценозов окружающей среды в отношении синегнойной палочки, золотистого стафилококка и т. д.

2. Контакт бактериальных клеток с агрессивными химическими соединениями активирует защитные механизмы бактерий, что скорее всего повышает её в том числе патогенность и антибиотикорезистентность.

3. Наличие обилия больных, подвергаемых действию антибиотиков, в среде, лишённой органических загрязнений иной природы, способствует адаптации синегнойной палочки к субстратам, производимым человеческим организмом, к существованию в организме человека.

4. Активное разрушение бактериальных клеток приводит к высвобождению ДНК, использование некоторых дезинфектантов не только консервирует эту ДНК, предотвращая её разрушение (в том числе бактериальными ДНКазами), но и повышает компетентность бактериальных клеток и вероятность горизонтальной передачи генов антибиотикорезистентности [15].

**Вопрос 2.** Каким образом реализуется антагонистическая активность микроорганизмов в биоплёночной форме?

В известной нам литературе широко описаны различные микробные сообщества, входящие в состав биоплёнок, координированно и взаимовыгодно реагирующие на изменения окружающей среды («quorum sensing»), регулирующие и синтез практически всех внеклеточных продуктов (пиоцианина, экзотоксина А, экзоэнзима S и др.). Образующие биоплёнку бактерии не только механически связаны матриком, но, по всей видимости, проявляют сложные формы взаимодействия:

ассимиляции диффундирующих по матриксу питательных веществ; освобождения от избыточного накопления токсических продуктов, ферментов и других веществ, способных вызвать гибель членов биоплёнки; синхронной выработки факторов вирулентности. Однако при этом изучение различных экологических стратегий взаимодействия и биохимических механизмов конкуренции бактерий различных видов проводили исключительно с суспензионными культурами. Поэтому существующие данные не дают чёткого понимания о механизмах взаимодействия и конкуренции микроорганизмов, находящихся в составе биоплёнок. В этой связи анализ механизмов конкуренции, в частности, получение данных о том, конкурируют ли бактерии друг с другом внутри биоплёнок, или речь идёт о конкуренции между биоплёнками разных видов, позволит выработать новые гипотезы, объясняющие механизмы взаимодействия микроорганизмов. Предпочтение в исследованиях отдаётся представителям патогенной и условно патогенной микрофлоры, встречающейся в экологических нишах, богатых органическими соединениями, например, биоплёнка *Pseudomonas aeruginosa* в системе водоснабжения и канализационных системах [7].

С одной стороны, различные виды и биотипы микроорганизмов находятся друг с другом в состоянии топической и пищевой конкуренции, с другой стороны – нередко имеет место образование синтрофных связей, обмен генетическим материалом, формирование консорциумов и т. п. Одним из ярких механизмов реализации антагонизма является продукция микробиоцинов, конкуренция за факторы питания [16, 17].

Если рассматривать вопросы антагонистической активности бактерий в биоплёночной форме, то замедление диффузии микробиоцинов благодаря формированию биоплёнки теоретически позволяет создавать локально их более высокие концентрации. Это может быть полезно в условиях дефицита ресурсов и замедления синтеза белка. Следовательно, в условиях непрерывной убыли микробиоцинов из места их синтеза наличие биоплёнки является неоспоримым преимуществом для межвидовой конкуренции бактерий с использованием микробиоцинов. Замедление потери микробиоцинов благодаря биоплёнке должно превращать биоплёнку в зону с повышенной концентрацией микробиоцинов.

В литературе описано существенно меньше типов сигнальных молекул, участвующих в реакциях кворум-сенсинга, чем видов микроорганизмов, что, вероятно, может приводить к перекрёстным реакциям. Например, 3-оксогексаноил-гомосеринлактон, продуцируемый *Vibrio fischeri*, способен инициировать реакции кворум-сенсинга у *P. aeruginosa* и *Escherichia coli* [18]. Возможности существования модификаций ацилгомосеринлактонов ограничены вариацией длины углеродной цепи и добавлением небольшого числа радикальных групп. Аутоиндукторов второго типа – производных 4,5-дигидрокси-2,3-пентадиенона – ещё меньше, и они не являются видоспецифичными [19]. Что характерно, для *Salmonella enterica*, *E. coli*, *Enterobacter* spp., то есть грамотрицательных бактерий, обитающих в кишечнике млекопитающих и птиц, именно AI-2 (аутоиндуктор второго типа) является медиатором, влияющим на инициирование реакций кворум-сенсинга. Любопытно также, что у кишечной палочки и сальмонеллы описано наличие рецептора к аутоиндуктору 1-го типа (SdiA), но отсутствует ген синтазы этого аутоиндуктора (luxI) [20], соответственно отсутствует продукция гомосеринлактонов (AHL) [21, 22]. Поэтому можно ожидать наличие сложных механизмов конкуренции QS систем разных видов бактерий. Логично ожидать, что выявление бактерий, способных модифицировать QS реакции *P. aeruginosa*, может иметь существенное медицинское значение в качестве средства подавления таких факторов патогенности *P. aeruginosa*, как образование биоплёнок, продукция пиоцианина, эластазы и т. д.

В литературе описана разновидность антагонизма бактерий, связанных с реакциями чувства кворума. Теоретически могут существовать механизмы, интерферирующие с ключевыми реакциями кворум-сенсинга, которые могут использоваться для подавления кворум-сенсинга (quorum-quenching) и предотвращения инфекций. За последние несколько лет было выявлено несколько групп химических соединений и ферментов, включая галогенированные фураноны, продуцируемые *Delisea pulchra*, и получены синтетические производные, мишенью которых являются R-белки [23], синтетические аналоги AHL и AIP, которые могут конкурировать с сигналами чувства кворума [24], и quorum-quenching ферменты, включая AHL-лактоназу, AHL-ацилазу и параоксоназу (PONs), которые деградируют AHL-сигналы [25, 26]. Очевидно, что изучение механизмов чувства – кворума и кворум-квенчинга – быстро прогрессирует последние годы, и следует ожидать новых открытий в этой сфере.

Известны небольшие химические соединения, подавляющие реакции чувства кворума, которые могут быть сгруппированы в две категории, согласно их структурам и функциям. К одной группе относятся структурные миметики кворум-сенсинг сигналов, такие как галогенированные фураноны и синтетические AIP, сходные с AHL- и AIP-сигналами соответственно. Очевидно, что эти ингибиторы действуют путём интерференции с сигнальными молекулами, конкурируя за связывание с рецепторами или снижая концентрацию рецепторов [27]. Другая группа небольших молекул подавляет активность ферментов. Например, триклозан ингибирует enoY-ACP редуктазу, которая нужна для образования основного предшественника AHL [28], клозантел – потенциальный ингибитор двухкомпонентной системы сенсора гистидин-киназы [29].

AHL-лактоназы, гидролизующие гомосерин-лактонное кольцо AHL-сигналов, были открыты у многих видов микроорганизмов [25]. Первая AHL-лактоназа, кодируемая геном *aiiA* изолята *Bacillus* spp. (240B1), была изучена путём клонирования в *Escherichia coli* с использованием AHL в качестве субстратов. Фермент был отнесён к суперсемейству металло-гидролаз, которые содержат мотив 'His104-X-His106-X-Asp108-His109', схожий с цинк-связывающим мотивом у нескольких металло-энзимов, включая глиоксалазу II, арилсульфатазу и β-лактамазу [25].

Некоторые виды бактерий, включая *Variovorax paradoxus*, ряд изолятов *Ralstonia*, *P. aeruginosa* PAO1 и *Streptomyces* spp. have кодируют AHL-ацилазу, деградирующую AHL-сигналы путём гидролиза амидной связи AHLs с образованием соответствующей жирной кислоты и гомосеринлактона [25, 30, 31].

В приведённом выше обзоре в основном обсуждаются вопросы подавления реакций чувства кворума, в том числе с целью борьбы с биоплёнками. Сам факт наличия систем регуляции продукции сигналов кворум-сенсинга заставляет предполагать, что не только дефицит этих медиаторов способен снизить выживаемость бактерий, образующих биоплёнки, но и их избыток также может препятствовать эффективному размножению микроорганизмов. Можно констатировать, что на сегодняшний день недостаточно изучены вопросы, связанные с нарушением баланса реакций кворум-сенсинга СГП (равно как и других видов бактерий, формирующих биоплёнки), которые также могли бы предоставить конкурентное преимущество бактериям-антагонистам и быть полезными в медицинской практике.

Представляет интерес тот факт, что в большинстве случаев химический состав биоплёнок варьирует в широких пределах у разных видов [32]. Биоплёнки многих микроорганизмов могут быть разрушены ограниченным числом видов бактерий, в первую очередь самим видом – продуцентом биоплёнки [33].

**Вопрос 3.** Влияет ли образование биоплёнок на антибиотикорезистентность?

Одной из важных особенностей синегнойной палочки является её способность к образованию биоплёнок (в качестве одной из реакций чувства кворума), образование биоплёнок считается одним из факторов устойчивости к антибиотикам (что, на наш взгляд, является весьма дискуссионным утверждением) и антисептикам. Также биоплёнки препятствуют фагоцитозу (при нахождении синегнойной палочки в организме и работе гуморального иммунитета). Подавление некоторых реакций кворум-сенсинга синегнойной палочки в объектах окружающей среды и в организме человека и животных может являться важным фактором, снижающим риск развития госпитальных инфекций, хронических инфекций, плохо поддающихся антибиотикотерапии, и т. д.

Существование бактерий внутри изолированных биоплёнок обеспечивает им много преимуществ по сравнению с изолированными клетками. По мнению ряда авторов, для практической медицины особенно важно, что бактерии в биоплёнках имеют повышенную выживаемость в присутствии агрессивных веществ, факторов иммунной защиты и антибиотиков. Бактерии и грибы в биоплёнках выживают в присутствии антибиотиков, добавленных в количестве, в 500–1000 раз большем, чем их минимальная подавляющая концентрация [34–37]. Механизмы антибиотикорезистентности, ассоциируемой с биоплёнками, остаются неясными [38]. Предполагается, что клетки в биоплёнках могут быть защищены от действия антибиотиков путём ограничения их проникновения через матрикс биоплёнки [39]. Тем не менее, хотя наблюдается замедление диффузии в биоплёнке β-лактамов антибиотиков и аминокликозидов, фторхинолоны проникают через биоплёнку без задержки [40–42].

Применительно к бактериям вообще и *P. aeruginosa* в частности, нам представляется совершенно не очевидным, что формирование биоплёнки само по себе может повышать устойчивость к антибиотикам. Рассмотрим, например, такой тест на антибиотикорезистентность, как диско-диффузионный метод оценки антибиотикорезистентности. В этом методе слой плотной питательной среды вполне можно рассматривать как аналог биоплёнки. Антибиотик диффундирует с диска, содержащего антибиотик, и контактирует с суспензией бактерий, распределённых по поверхности агара, в течение определённого времени. В течение нескольких часов происходит усреднение концентрации антибиотика в чашке Петри, и концентрация падает ниже минимальной ингибирующей концентрации (МИК). Размеры пор в биоплёнке недостаточно малы, чтобы биоплёнку можно было рассматривать в качестве барьера, препятствующего контакту антибиотика с клеткой. Например, при оценке антибиотикорезистентности суспензионных и биоплёночных форм бактерий фактом замедления диффузии антибиотика в геле биоплёнки можно пренебречь, так как контакт культуры с антибиотиком происходит в течение нескольких часов, а объём биоплёнки в исследуемой ёмкости занимает несколько процентов.

Более значимым фактором может быть перестройка метаболизма бактериальной клетки в процессе реализации реакций чувства кворума, где биоплёнообразование является лишь частным случаем реакций чувства кворума.

К ситуациям, в которых биоплёнка может оказывать непосредственно воздействие на устойчивость к антибиотикам, можно отнести два момента:

1. Более плавное нарастание концентрации антибактериального соединения в биоплёнке (в сравнении с суспензионной культурой), что может дать время на активацию механизмов индуцибельной антибиотикорезистентности (включение эффлюкс-помп, например).

2. Создание высоких локальных концентраций ферментов, инактивирующих антибиотики (очевидно, что более высокомолекулярные ферменты будут диффундировать за пределы биоплёнки медленнее, чем туда начнут проникать низкомолекулярные антибактериальные соединения) [43, 44].

Эксперименты по разрушению биоплёнки синегнойной палочки с помощью фермента альгинат-лиазы показали значительное снижение выживаемости бактерий в присутствии гентамицина и ципрофлоксацина [45]. Это, конечно, позволяет подтвердить, что какая-то связь биоплёнок с механизмами антибиотикоустойчивости всё-таки есть, однако является эта связь прямой или она опосредована влиянием самих биоплёнок на метаболизм бактериальной клетки? Большая часть механизмов устойчивости к антибиотикам, ассоциируемая с биоплёнками, подразумевает не прямой эффект матрикса биоплёнки на антибиотики, а эффект состояния бактериальной клетки, ассоциируемый с процессом биоплёнообразования [46, 47]. Из этого утверждения следует, что устойчивость к антибиотикам могла бы реализоваться без образования собственно биоплёнки, во многих случаях, вероятно, достаточно реализации других реакций чувства кворума или стресс-реакций (способных инициировать свою биоплёнообразование), чтобы микроорганизм повысил свою устойчивость к антибиотикам. Например, это может быть за счёт образования неделящихся персистентных клеток, замедления роста бактериальной культуры и иных метаболических изменений, активируемых в рамках реакций чувства кворума.

**Вопрос 4.** Какова основная функция биоплёнок в функционировании бактерий?

Ранее мы уже поставили вопрос о роли вклада биоплёнки в обеспечении устойчивости микроорганизма к антибиотикам и прочим антибактериальным соединениям. Вопрос о том — зачем нужна биоплёнка бактериям? — остаётся дискуссионным [48]. Удельная доля микробной биомассы занимает в составе биоплёнки незначительную часть. При этом биоплёнки часто образуются в неблагоприятных условиях — когда концентрация бактерий велика и очевидно наличие дефицита питательных ресурсов. Совершенно нелогично ожидать, что при избытке бактерий и дефиците питательных компонентов эволюционно выгодно будет формировать защитные структуры в виде биоплёнки. Однако способность бактерий разрушать собственную биоплёнку и неспособность микроорганизмов других видов делать то же самое наводит на мысль: биоплёнка — это структура, в которой происходит запасание питательных веществ (в труднодоступной для конкурентных видов форме). С другой стороны — высокая гидрофильность биоплёнок и сравнительно большой удельный объём, который занимает бактериальная культура в биоплёночной форме, позволяет рассматривать биоплёнку ещё и как средство топической конкуренции. Экзополимеры биоплёнки не препятствуют диффузии низкомолекулярных соединений, но ограничивают доступ внутрь биоплёнки посторонних микроорганизмов. Таким образом, микроорганизмы в составе биоплёнки с большей эффективностью конкурируют за микронутриенты в сравнении с суспензионными формами микроорганизмов. Остаётся не до конца очевидным вопрос — является ли биоплёнка в первую очередь средством топической конкуренции, или запасание источников энергии и, возможно, воды является более приоритетной функцией.

## Заключение

Анализ литературы заставляет прийти к мнению, что образование биоплёнки не преследует своей целью защиту от неблагоприятных факторов окружающей среды. Повышение устойчивости биоплёночных форм бактерий к антибиотикам является следствием процессов, протекающих параллельно с образованием биоплёнки. Наиболее вероятно, что биоплёнка выполняет функцию запасания питательных веществ и обеспечения топической конкуренции в условиях дефицита пищевых ресурсов.

## Литература

(пп. 1–4, 7–9, 11–48 см. References)

5. Литвин В. Сапрофитная фаза в экологии возбудителей инфекционных заболеваний. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии*. 1985; 1: 98–103.
  6. Сомов Г.П., Варвашевич Т.Н., Тимченко Н.Ф. *Психрофильность патогенных бактерий*. Новосибирск: Наука; 1991. 201 с.
  10. Гостев В.В., Сидоренко С.В. Бактериальные биопленки и инфекции. *Журнал инфектологии*. 2010; 2 (3): 4–15.
- 
- References**
1. Peleg A.Y., Hooper D.C. Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. *N Engl J Med*. 2010; 362 (19): 1804–13. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMra0904124>.
  2. Cross A., Allen J.R., Burke J., Duclé G., Harris A., John J. et al. Nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa*: review of recent trends. *Rev Infect Dis*. 1983; 5 (Suppl 5): 837–45.
  3. Gibson R.L., Burns J.L., Ramsey B.W. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2003; 168 (8): 918–51.
  4. Singh P.K., Schaefer A.L., Parsek M.R., Moninger T.O., Welsh M.J., Greenberg E.P. Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lungs are infected with bacterial biofilms. *Nature*. 2000; 407 (6805): 762–4. DOI: <https://doi.org/10.1038/35037627>.
  5. Litvin V. Saprophytic phase in the ecology of causative agents of infectious disease. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 1985; 1: 98–103. (in Russian)
  6. Somov G.P., Varvashevich T.N., Timchenko N.F. *Psychrophilicity of pathogenic bacteria [Psikhrofil'nost' patogennykh bakteriy]*. Novosibirsk: Nauka; 1991. 201 p. (in Russian)
  7. Hardalo C., Edberg S.C. *Pseudomonas aeruginosa*: assessment of risk from drinking water. *Crit Rev Microbiol*. 1997; 23 (1): 47–75.
  8. Blanc D.S. The use of molecular typing for the epidemiological surveillance and investigation of endemic nosocomial infections. *Infect Genet Evol*. 2004; (4): 193–7.
  9. Grundmann H., Kropec A., Hartung D., Berner R., Daschner F. *Pseudomonas aeruginosa* in a neonatal intensive care unit: reservoirs and ecology of the nosocomial pathogen. *J Infect Dis*. 1993; 168 (4): 943–7.
  10. Gostev V.V., Sidorenko S.V. Bacterial biofilms and infections. *Zhurnal infekologii. [Journal of Infectology]*. 2010; 2 (3): 4–15.
  11. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science*. 1999; 284: 1318–22.
  12. Costerton W., Veeh R., Shirtliff M. et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *Clin Invest*. 2003; 112: 1466–77.
  13. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Ann Rev Microbiol*. 2000; 54: 49–79.
  14. Tetz V.V. The effect of antimicrobial agents and mutagen on bacterial cells in colonies. *Med Microbiol Lett*. 1996; 5: 426–36.
  15. Verraes C., Van Boxtael S., Van Meervenne E., Van Coillie E., Butaye P., Cattri B. et al. Antimicrobial Resistance in the Food Chain: A Review. *Int J Environ Res Public Health*. 2013; 10: 2643–69.
  16. Freedman D.J., Kondo J.K., Willrett D.L. Antagonism of Foodborne Bacteria by *Pseudomonas* spp.: A Possible Role for Iron. *J Food Prot*. 1989; 52 (7): 484–9.
  17. El-Shouby W.A., Al-Baidani A.R.H., Hamza W.T. Antimicrobial Activity of Pyocyanin Produced by *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Surgical Wound-Infections International. *Journal of Pharmacy and Medical Sciences*. 2011; 1 (1): 1–7.
  18. Gray K.M., Passador L., Iglewski B.H., Greenberg E.P. Interchangeability and specificity of components from the quorum-sensing regulatory systems of *Vibrio fischeri* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*. 1994; 176 (10): 3076–80.
  19. Surette M.G., Miller M.B., Bassler B.L. Quorum sensing in *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, and *Vibrio harveyi*: a new family of genes responsible for autoinducer production. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1999; 96: 1639–44.
  20. Wang X.D., de Boer P.A., Rothfield L.I. A factor that positively regulates cell division by activating transcription of the major cluster of essential cell division genes of *Escherichia coli*. *EMBO J*. 1991; 10 (11): 3363–72.
  21. Michael B., Smith J.N., Swift S., Heffron F., Ahmer B.M. SdiA of *Salmonella enteric* is a LuxR homolog that detects mixed microbial communities. *J Bacteriol*. 2001; 183: 5733–42.
  22. Swift S., Lynch M.J., Fish L., Kirke D.F., Tomas J.M., Stewart G.S. et al. Quorum sensing-dependent regulation and blockade of exoprotease production in *Aeromonashydrophila*. *Infect Immun*. 1999; 67: 5192–9.
  23. Manefield M., Rasmussen T.B., Hentzer M., Andersen J.B., Steinberg P., Kjelleberg S. et al. Halogenated furanones inhibit quorum sensing through accelerated LuxR turnover. *Microbiology*. 2002; 148: 1119–27.
  24. Smith K.M., Bu Y., Suga H. Induction and inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* quorum sensing by synthetic autoinducer analogs. *Chem Biol*. 2003; 10: 81–9.
  25. Lin Y.-H., Xu J.-L., Hu J., Wang L.-H., Ong S.L., Leadbetter J.R. et al. Acyl-homoserine lactone acylase from *Ralstonia* strain XJ12B represents a novel and potent class of quorum-quenching enzymes. *Mol Microbiol*. 2003; 47: 849–60.
  26. Dong Y.-H., Xu J.-L., Li X.-Z., Zhang L.H. AiiA, an enzyme that inactivates the acylhomoserine lactone quorum-sensing signal and attenuates the virulence of *Erwinia carotovora*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97: 3526–31.
  27. Hentzer M. Attenuation of *Pseudomonas aeruginosa* virulence by quorum sensing inhibitors. *EMBO J*. 2003; 22: 3803–15.
  28. Hoang T.T., Schweizer H.P. Characterization of *Pseudomonas aeruginosa* enoyl-acyl carrier protein reductase (FabI): a target for the antimicrobial triclosan and its role in acylated homoserine lactone synthesis. *J Bacteriol*. 1999; 181: 5489–97.
  29. Stephenson K., Yamaguchi Y., Hoch J.A. The mechanism of action of inhibitors of bacterial two component signal transduction systems. *J Biol Chem*. 2000; 275: 38900–4.
  30. Huang J.J., Han J.-I., Zhang L.-H., Leadbetter J.R. Utilization of acyl-homoserine lactone quorum signals for growth by a soil pseudomonad and *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. *Appl Environ Microbiol*. 2003; 69 (10): 5941–9.
  31. Park S.-Y., Kang H.-O., Jang H.-S., Lee J.-K., Koo B.-T., Yum D.-Y. Identification of extracellular N-acylhomoserine lactone acylase from a *Streptomyces* sp. and its application to quorum quenching. *Appl Environ Microbiol*. 2005; 71: 2632–41.
  32. Branda S.S., Vik Å., Friedman L., Kolter R. Biofilms: the matrix revisited. *Trends Microbiol*. 2005; 13: 20–6.
  33. Murata K., Inose T., Hisano T., Abe S., Yonemoto Y., Yamashita T. et al. Bacterial alginate lyase: enzymology, genetics and application. *J Ferment Bioeng*. 1993; 76: 427–37.
  34. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinic Microbiol Rev*. 2002; 15: 167–93.
  35. Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. *Nat Rev Drug Discov*. 2003; 2: 114–22.
  36. Campanac C., Pineau L., Payard A., Baziard-Mouysset G., Roques C. Interactions between Biocide Cationic Agents and Bacterial Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46: 1469–74.
  37. Chambless J.D., Hunt S.M., Philip S.S. A three-dimensional computer model of four hypothetical mechanisms protecting biofilms from antimicrobials. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72: 2005–13.
  38. Mulcahy H., Charron-Mazenod L., Lewenz S. Extracellular DNA Chelates Cations and Induces Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. *PLoS Pathog*. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000213>.
  39. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: A common cause of persistent infections. *Science*. 1999; 284: 1318–22.
  40. Kumon H., Tomochika K., Matunaga T., Ogawa M., Ohmori H. A sandwich cup method for the penetration assay of antimicrobial agents through *Pseudomonas* exopolysaccharides. *Microbiol Immunol*. 1994; 38: 615–9.
  41. Hoyle B.D., Alcantara J., Costerton J.W. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm as a diffusion barrier to piperacillin. *Antimicrob Agents Chemother*. 1992; 36: 2054–6.
  42. Suci P.A., Mittelman M.W., Yu F.P., Geesey G.G. Investigation of ciprofloxacin penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994; 38: 2125–33.
  43. Hogan D., Kolter R. Why are bacteria refractory to antimicrobials? *Cur Opin Microbiol*. 2002; 5: 472–7.
  44. Poole K. Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance. *J Appl Microbiol*. 2002; 92: 55–64.
  45. Cotton L.A., Graham R.J., Lee R.J. The Role of Alginate in *P. aeruginosa* PAO1 Biofilm Structural Resistance to Gentamicin and Ciprofloxacin. *JEMI*. 2009; 13: 58–62.
  46. Hentzer M., Givskov M. Pharmacological inhibition of quorum sensing for the treatment of chronic bacterial infections. *J Clin Invest*. 2003; 112: 1300–7.
  47. Bjarholt T., Givskov M. Quorum-sensing blockade as a strategy for enhancing host defences against bacterial pathogens. *Phil Trans R Soc B*. 2007; 362: 1213–22.
  48. Jefferson K.K. What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiol Lett*. 2004; 236: 163–73.