DOI: 10.20953/2500-1027-2026-3-39-48

Бактериология, 2026, том 11, №3, с. 39–48
Bacteriology, 2026, volume 11, No 3, p. 39–48

Воздействие литического фага Ph_15 на биопленки фагоустойчивых вариантов *Pseudomonas aeruginosa*

В.В.Кузин[1], О.А.Щербакова[1], Н.В.Колупаева[1], Е.С.Кузина[1], Л.В.Колупаева[1], Н.С.Грищенко[1], Т.И.Рудницкая[1], Р.Н.Перчиков[2], Е.В.Детушева[1]

[1]ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, Оболенск, Российская Федерация;
[2]ФГБОУ ВО «Тульский государственный университет», Тула, Российская Федерация

Антибиотикорезистентность представляет собой одну из самых серьезных угроз для глобального общественного здравоохранения и срочно требует новых и эффективных решений. Бактериофаги – это бактериальные вирусы, которые все чаще признаются эффективной альтернативой традиционной антибиотикотерапии. В данном исследовании оценивалась эффективность применения бактериофагов для разрушения полисахаридного матрикса биопленок фагоустойчивых вариантов *Pseudomonas aeruginosa*. Несмотря на значительное снижение численности жизнеспособных клеток, обработка бактерий фагом приводит к появлению фагорезистентных вариантов. С целью выявления генетических детерминант резистентности проведено полногеномное секвенирование трех фагоустойчивых вариантов. На основе данных аннотирования в их геномах обнаружено 32 однонуклеотидные замены, при этом мутации затронули широкий спектр генов. Среди них идентифицированы гены систем транспорта и резистентности (*oprM*, *phnD*), факторов подвижности (*pilY*), биосинтеза аминокислот (*argD*), а также ферментов метаболизма (*acpP1*, *ntk*, *rsmC*). Выявленные несинонимичные замены могут приводить к конформационным изменениям белков и служить молекулярной основой для адаптивных фенотипических признаков штамма.

Ключевые слова: фагоустойчивые варианты, Pseudomonas aeruginosa, разрушение биопленок, бактериофаги, дезинфицирующие вещества, экзополисахаридный матрикс

Для цитирования: Кузин В.В., Щербакова О.А., Колупаева Н.В., Кузина Е.С., Колупаева Л.В., Грищенко Н.С., Рудницкая Т.И., Перчиков Р.Н., Детушева Е.В. Воздействие литического фага Ph_15 на биопленки фагоустойчивых вариантов *Pseudomonas aeruginosa*. Бактериология. 2026; 11(3): 39–48. DOI: 10.20953/2500-1027-2026-3-39-48

Effect of lytic phage Ph_15 on the polysaccharide matrix of *Pseudomonas aeruginosa* mutants resistant to it

V.V.Kuzin[1], O.A.Shcherbakova[1], N.V.Kolupaeva[1], E.S.Kuzina[1], L.V.Kolupaeva[1], N.S.Grishchenko[1], T.I.Rudnitskaya[1], R.N.Perchikov[2], E.V.Detusheva[1]

[1]State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor, Obolensk, Russian Federation;
[2]Tula State University, Tula, Russian Federation

Antibiotic resistance is one of the most serious threats to global public health and urgently requires new and effective solutions. Bacteriophages are bacterial viruses that are increasingly recognized as an effective alternative to traditional antibiotic therapy. In this study, the effectiveness of the use of bacteriophages for the destruction of the polysaccharide matrix of biofilms resistant to phage mutants of *Pseudomonas aeruginosa* was evaluated. Despite a significant decrease in the number of viable cells, phage treatment of bacteria led to the emergence of phage-resistant variants. In order to identify the genetic determinants of resistance, genome-wide sequencing of three phage-resistant variants was performed. Based on the annotation data, 32 single nucleotide polymorphisms were found in their genomes, with mutations affecting a wide range of genes. Among them, the genes of transport and resistance systems (*oprM*, *phnD*), motility factors (*pilY*), amino acid biosynthesis (*argD*), as well as metabolic enzymes (*acpP1*, *ntk*, *rsmC*) have been identified. The identified non-synonymous substitutions can lead to conformational changes in proteins and serve as the molecular basis for adaptive phenotypic traits of the strain.

Для корреспонденции:

Кузин Виктор Владимирович, научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., г.о. Серпухов, п. Оболенск, Территория «Квартал А», 24
Телефон: (4967) 31-2182
E-mail: kuzin@obolensk.org
ORCID: 0000-0002-1219-6704

Статья поступила 31.07.2026 принята к печати 30.09.2026

For correspondence:

Viktor V. Kuzin, Researcher of Department for Training and Improvement of Specialists, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Address: 24 "Quarter A» Territory, Obolensk, City District Serpukhov, Moscow region, 142279, Russian Federation
Phone: 8 (4967) 31-2182
E-mail: kuzin@obolensk.org
ORCID: 0000-0002-1219-6704

Статья поступила 31.07.2026, принята к печати 30.09.2026

Key words: phage-resistant variants, Pseudomonas aeruginosa, biofilm destruction, bacteriophages, disinfectants, exopolysaccharide matrix

For citation: Kuzin V.V., Shcherbakova O.A., Kolupaeva N.V., Kuzina E.S., Kolupaeva L.V., Grishchenko N.S., Rudnitskaya T.I., Perchikov R.N., Detusheva E.V. Effect of lytic phage Ph_15 on the polysaccharide matrix of *Pseudomonas aeruginosa* mutants resistant to it. Bacteriology. 2026; 11(3): 39–48. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2026-3-39-48

Pseudomonas aeruginosa – широко распространенный условно-патогенный микроорганизм, который считается одной из ведущих причин внутрибольничных инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями [1, 2]. Инфекции, вызванные *P. aeruginosa*, как правило, трудно поддаются лечению, поскольку данный патоген демонстрирует высокую устойчивость к широкому спектру антимикробных препаратов за счет врожденных, приобретенных и адаптивных механизмов резистентности [3, 4]. Кроме того, эта бактерия обладает способностью прикрепляться к поверхностям и образовывать биопленки, что делает ее особенно устойчивой, поскольку, биопленка образует защитную оболочку вокруг микробного сообщества и обеспечивает микроорганизмам защитную среду [5, 6]. Для эффективной борьбы с инфекциями, вызванными *P. aeruginosa*, необходимы постоянные исследования, включающие поиск альтернативных противомикробных подходов и понимание взаимодействия между организмом и патогеном [7].

Антибактериальная активность бактериофагов против *P. aeruginosa* изучается различными группами исследователей [8, 9]. Результаты исследований [9–15] показали, что фаготерапия является эффективной стратегией борьбы с инфекциями, вызываемыми *P. aeruginosa*. Несмотря на это, фаги и их бактериальные хозяева постоянно взаимодействуют в процессе коэволюции, и бактерии выработали множество стратегий выживания. Эти стратегии включают предотвращение адсорбции фагов на бактериальных хозяевах, предотвращение проникновения ДНК фагов с помощью систем исключения суперинфекции, расщепление нуклеиновых кислот фагов с помощью систем рестрикции-модификации или систем CRISPR-Cas, а также гибель инфицированной клетки с помощью абортивных систем [16]. Следовательно, появление устойчивых к фагам вариантов бактерий после заражения фагами практически неизбежно [17]. Исследование взаимодействия фагов с биопленками показало возобновление роста популяции биопленок после заражения фагами, что было связано с развитием устойчивых к фагам вариантов [18]. При этом не приводится описания эффективности воздействия фагов и их ферментов на структуру полисахаридного матрикса фагоустойчивых вариантов *P. aeruginosa*.

Цель работы: экспериментальное сравнение эффективности использования литического фага Ph_15 для разрушения биопленок *P. aeruginosa*, сформированных референсным штаммом и фагоустойчивыми вариантом.

Материалы и методы

Штаммы бактерий, бактериофаги и условия культивирования

Референсный штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853 получен из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур (ГКПМ-Оболенск). Бактерии выращивали при 37°С в жидкой питательной среде ГРМ-бульон, а также на плотной питательной среде ГРМ №1 (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия). В данной работе использовался ранее охарактеризованный фаг Ph_15 [19].

Дезинфицирующие вещества

В работе использовали четыре химических дезинфицирующих вещества различных функциональных классов: бензалкония хлорид 50% (Neoxim, Россия), перекись водорода 37% (ООО «ИННОВАЦИЯ», Россия), гипохлорит натрия 4% (ООО «Скоропусковский Синтез», Россия), ортофталевый альдегид 99,5% (VIRUNAL, Россия).

Инфицирование планктонных культур фагом

Культуру *P. aeruginosa*, выращенную в течение 16 ч в жидкой среде, разбавляли в соотношении 1:100 до конечного объема 25 мл и инкубировали в течение 24 ч при 37°С и 120 об./мин. По истечении этого времени клетки центрифугировали (6000 g, 4°С, 5 мин) и ресуспендировали в свежей среде LB с фагами при различной множественности инфицирования (MOI 10; 1; 0,1). Контрольные эксперименты проводили с использованием SM-буфера (50 мМ Tris-HCl (pH 7,5), 100 мМ NaCl, 8 мМ $MgSO_4$ и 0,01% (масс./об.) желатина) вместо фага. Смесь инкубировали при 37°С в условиях аэрации при 120 об./мин и проводили посев на плотную питательную среду через 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 и 48 ч с целью отбора устойчивых вариантов *P. aeruginosa*.

Моделирование биопленки

Стерильные покровные стекла диаметром 12 мм (ООО «МиниМед», Брянск, Россия) помещали на дно стерильной чашки Петри в один слой и заливали жидкой питательной средой, содержащей микробную взвесь с концентрацией суспензии $1 \cdot 10^6$ клеток в 1 $см^3$ микроорганизмов, до полного покрытия. Для приготовления суспензии тест-микроорганизма культуру смывали с агара стерильным физиологическим раствором. Полученную взвесь разводили стерильным физиологическим раствором до концентрации ~$1 \cdot 10^9$ кл./$см^3$, соответствующей по мутности 3,3–3,5 ед. по стандарту Мак-Фарланда. Далее приготовленную микробную взвесь разводили стерильным ГРМ-бульоном до концентрации ~$1 \cdot 10^6$ кл./$см^3$.

Покровные стекла инкубировали в термостате при температуре +37 ± 1°С в течение 48 ч. Затем тест-поверхности со сформированной биопленкой извлекали из чашки Петри и трижды промывали стерильной дистиллированной водой с целью удаления планктонных клеток.

Воздействие фагов на биопленки P. aeruginosa

Покровные стекла с биопленкой *P. aeruginosa* погружали в фаговую суспензию (титр – не менее $1 \cdot 10^9$ БОЕ/мл) на 60 мин. Затем отмывали трехкратно в SM-буфере, переносили в пробирки с жидкой питательной средой и инкубировали при температуре 37°С в течение 48 ч. Критерием эффектив-

ности разрушения биопленки считали полную инактивацию бактериальных клеток в ее составе, о чем судили по отсутствию роста в жидкой питательной среде и при последующем пересеве на плотную среду. В качестве контроля вместо суспензии бактериофага использовали стерильную воду.

Комплексное применения бактериофага и дезинфицирующих веществ для разрушения биопленок P. aeruginosa

Покровные стекла с биопленкой *P. aeruginosa* обрабатывали суспензией бактериофага в течение 60 мин, после чего переносили в растворы дезинфицирующих веществ на 30 мин. Далее стекла погружали в раствор нейтрализатора, затем отмывали трехкратно в SM-буфере, переносили в пробирки с жидкой питательной средой и инкубировали при температуре 37°C в течение 48 ч. Критерием эффективности разрушения биопленки считали полную инактивацию бактериальных клеток в ее составе, о чем судили по отсутствию роста в жидкой питательной среде и при последующем пересеве на плотную среду. В качестве контроля вместо дезинфицирующего вещества использовали стерильную воду.

Фиксация образцов биопленок

Для подготовки полученных образцов к исследованию с помощью сканирующей электронной микроскопии проводили фиксацию образцов с биопленками на поверхности покровных стекол – после обработки бактериофагом, дезсредствами, а также контрольных биопленок, без воздействия.

Образцы биопленок, сформированных на поверхности покровного стекла, помещали в лунки культурального планшета на 24 лунки. Фиксацию образца осуществляли путем внесения в лунку планшета 500 мкл 25%-го раствора глутарового альдегида. Планшет закрывали крышкой и инкубировали в течение 15 мин. Затем образцы трижды промывали стерильной деионизованной водой и высушивали на воздухе до полного удаления влаги.

Сканирующая электронная микроскопия биопленок

Перед съемкой образец помещали на поверхность алюминиевого столика диаметром 32 мм и фиксировали при помощи проводящего углеродного скотча. С помощью устройства магнетронного распыления Cressingtor 208HR (Cressington Scientific Instruments, Великобритания) на поверхность образца напыляли 10 нм сплава золото/палладий (60/40). Изображения получали с использованием детектора вторичных электронов, при ускоряющем напряжении 3–5 кВ [20]. Для подбора наилучшего способа визуализации биопленки сьемку образцов производили как с напылением проводящего слоя углерода, так и без покрытия. Микроструктуру образцов изучали методом сканирующей электронной микроскопии с полевой эмиссией (FE-SEM) на электронном микроскопе Hitachi Regulus8230 (Hitachi, Япония). Съемку изображений вели в режиме регистрации вторичных электронов при ускоряющем напряжении 3–5 кВ. Морфология образцов исследовалась с учетом поправки на поверхностные эффекты напыления проводящего слоя [20, 21].

Выделение бактериальной геномной ДНК

Экстракцию ДНК выполняли фенол-хлороформным методом. Клеточный лизис проводили в присутствии 10%-го SDS и протеиназы K. К лизату добавляли смесь фенол-хлороформ-изоамиловый спирт (25:24:1), гомогенизировали на вортексе (Biosan, Латвия) и центрифугировали 10 мин (12 000 g, 4°C). Для осаждения ДНК к водной фазе добавляли изопропанол (80% от объема) и насыщенный раствор NaCl (1/9 объема). После инкубации (20 мин, 20°C) и центрифугирования (10 мин, 12 000 g) осадок промывали 400 мкл 70%-го этанола и центрифугировали в том же режиме. Высушенный осадок растворяли в 20 мкл TE-буфера (pH 8,0). Концентрацию ДНК измеряли на спектрофотометре NanoDrop (Thermo Scientific, США). Образцы использовали для полимеразной цепной реакции и хранили при -20°C.

Полногеномное секвенирование и биоинформатический анализ бактериальных геномов

Полногеномное секвенирование проводили на платформе GenoLab M с использованием наборов SG GM PLUS (ООО «Сесана», Россия) и GenoLab M Sequencing set V2.0 (FCM 300 циклов) (GeneMind Biosciences Co., Ltd., Китай) для подготовки геномных библиотек. Сборку геномов de novo из полученных ридов выполняли в программе Unicycler (v. 0.5.0) со стандартными параметрами [22]. Идентификацию однонуклеотидных замен (SNP) осуществляли с использованием инструмента Snippy [23]. Биоинформатический анализ выполняли с использованием веб-сервера NCBI BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) [24] и программного обеспечения Unipro UGENE [25].

Статистический анализ

Статистический анализ результатов экспериментов проводился с использованием двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с поправкой Бонферрони для множественных сравнений в программе GraphPad Prism 8. Все тесты выполнялись с уровнем достоверности $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Получение фагоустойчивых вариантов P. aeruginosa

В работе был использован бактериофаг Ph_15, ранее выделенный из проб воды Московской области, образующий на бактериальном газоне прозрачные негативные колонии с наличием зон неполного лизиса. Согласно Международной классификации и таксономии вирусов бактериофаг относится к литическим бактериофагам семейства *Fredfastierviridae*, рода *Jamesmcgillvirus* [19].

Инфицирование планктонной культуры *P. aeruginosa* проводилось в течение 48 ч. В ходе исследования было выдвинуто предположение, что на более поздних этапах популяция в основном состоит из фагоустойчивых вариантов *P. aeruginosa*. При этом в экспериментах наблюдалось значительное снижение количества жизнеспособных клеток *P. aeruginosa* в процессе совместного инкубирования фага и бактериальных клеток, что обусловлено литическим действием фага, при этом максимальное снижение количества планктонных клеток (на четыре порядка) было достигнуто через 6 ч после обработки фагом (рис. 1).

Далее вплоть до 48 ч после заражения наблюдалось постепенное увеличение количества планктонных клеток, что, предположительно, связано с накоплением фагоустойчивых вариантов. Для определения минимального времени, необходимого для появления устойчивых вариантов после

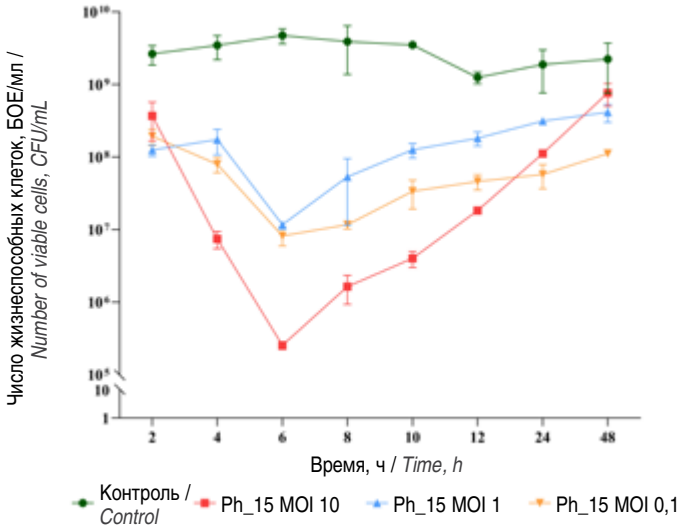


Рис. 1. **Изменение количества жизнеспособных клеток *P. aeruginosa* при инфицировании фагом Ph_15 при различной множественности инфицирования (MOI 0,1; 1; 10). Погрешности представлены стандартными отклонениями по результатам трех независимых экспериментов при $p < 0,05$.**

Fig. 1. ***Change in the number of viable P. aeruginosa cells upon infection with phage Ph_15 at various MOI. The error bars represent the standard deviations based on the results of three independent experiments at p < 0,05.***

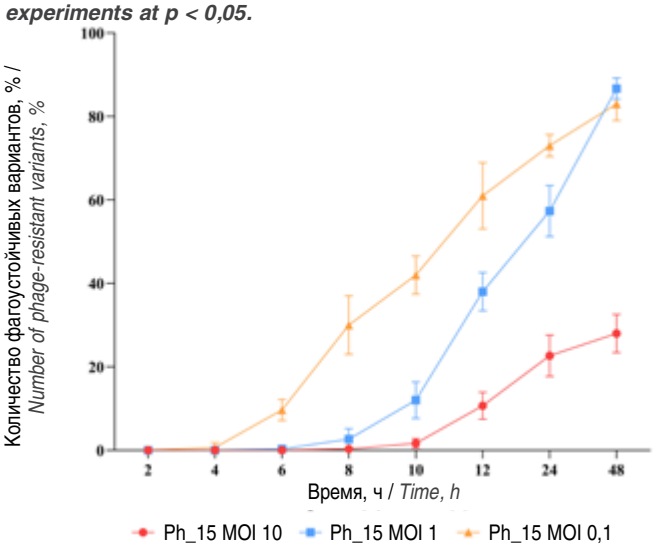


Рис. 2. **Процент колоний *P. aeruginosa*, выделенных в каждой временной точке эксперимента, устойчивых к фагу Ph_15 (MOI 0,1; 1; 10). Погрешности представлены стандартными отклонениями по результатам трех независимых экспериментов при $p < 0,05$.**

Fig. 2. ***The percentage of P. aeruginosa colonies isolated at each time point of the experiment that are resistant to phage Ph_15 (MOI 0.1, 1, 10). The error bars represent the standard deviations based on the results of three independent experiments at p < 0.05.***

заражения фагом, из проб выделяли по 10 колоний и оценивали их устойчивость к фагам. Динамика фагоустойчивых вариантов, выделенных в каждой временной точке эксперимента, показана на рис. 2.

Согласно полученным результатам, первые фагоустойчивые варианты *P. aeruginosa* были выделены уже через 6 ч после инфицирования, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [17]. Для дальнейшего изучения были отобраны 10 устойчивых вариантов *P. aeruginosa*, выделенных после 48 ч инкубирования культуры с фагом. Также отмечалось, что колонии трех фагоустойчивых вариантов не вырабатывали желто-зеленого пигмента, что указывает на изменения, связанные с выработкой пиоцианина и флуоресцина. Сохожие результаты были опубликованы в исследовании португальских ученых [17]. Все выбранные культры сохраняли устойчивость к фагу после трехкратного пересева.

Секвенирование геномной ДНК фагоустойчивых вариантов P. aeruginosa

Геномы трех фагоустойчивых вариантов штаммов *P. aeruginosa*, утративших способность к выработке окрашивающих пигментов, были секвенированы и сравнены с геномом референсного штамма *P. aeruginosa* ATCC 27853, не подверженного воздействию фага Ph_15, с целью выявления генетических вариаций, специфичных для фенотипа фагоустойчивости.

Анализ аминокислотных последровательностей выявлил полную идентичность геномов всех трех фагоустойчивых вариантов, что свидетельствует о принадлежности данных вариантов к единому клону. При анотировании генома фагоустойчивого варианта и его сравнения с геномом референсного штамма было обнаружено 32 однонуклеотидные замены (single nucleotide polymorphism/SNP), локализованные в 13 различных контигах (табл. 1).

Из общего числа выявленных полиморфизмов 15 (46,9%) замен являлись синонимичными и не приводили к изменению первичной структуры кодируемых белков. Остальные 17 (53,1%) SNP были классифицированы как несинонимичные мутации, обусловливающие аминокислотные замены в транслируемых продуктах. Особый интерес представляет локализация несинонимичных SNP в генах, отвечающих за адаптацию, транспорт и мембранную проницаемость бактериальной клетки.

При аннотировании были обнаружены единичные олигонуклеотидные замены идентифицированые в структурных генах белков внешней мембраны *oprM* и *oprD*, поскольку изменения в их структуре напрямую определяют профиль барьерной проницаемости и механизмы лекарственной устойчивости грамотрицательных бактерий. В частности, в контиге 7 была идентифицирована несинонимичная замена в гене oprM. Продукт данного гена является критически важным наружным компонентом эффлюксных систем семейства RND (Resistance-Nodulation-Division), таких как MexAB-OprM, обеспечивающих активное выведение антибиотиков и ксенобиотиков из клетки [26]. Подобная перестройка в структуре белка способна вызвать локальные конформационные изменения туннельного канала, что может влиять на кинетику эффлюксного насоса. В гене другого ключевого порина – *oprD* – замена имела синонимичный характер. Белок OprD выполняет функцию субстрат-специфического канала, обеспечивающего не только импорт основных аминокислот, но и антибиотиков карбапенемового ряда (имипенема и меропенема) [27]. Однако отсутствие несинонимичных замен в локусе *oprD* у исследуемого штамма указывает на сохранение нативной первичной структуры порина, что свидетельствует о потенциальной функциональности данного транспортного пути. Известно, что белок OprD и липополисахариды (ЛПС) формируют единую динамичсескую систему проницаемости наружной мембраны. Мутации в гене *oprD* могут приводить к изменению физических свойств ЛПС-матрикса наружной мембраны [28].

Таблица 1. **Характеристика и геномная локализация однонуклеотидных замен (SNP) в геноме фагоустойчивого варианта *P. aeruginosa***
Table 1. ***Characteristics and genomic localization of singlenucleotide polymorphisms (SNPs) in the genomes of three phageresistant variants of P. aeruginosa***

№ контига / *№ contigue*	Позиция SNP / *SNP's position*	Ген / Gene	Продукт гена / *Gene product*	Вариации аминокислотных замен / *Variations of amino acid substitutions*
1	39613	–	Гипотетический белок / *Hypothetical protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
2	195645	*rutF*	Белок семейства флавинредуктаз / *Protein of the flavin reductase family*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
2	437309	*Fiu*	Tonb-зависимый рецептор / *Tonb-dependent receptor*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
3	121703	*vWFA*	Белок, содержащий домен VWA / *Protein containing the VWA domain*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (R > K)*
3	241663	*acpP1*	ACP S-малонилтрансфераза / *ACP S-malonyltransferase*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (G > A)*
3	284314	–	Гипотетический белок / *Hypothetical protein*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (P > A)*
3	284328	–	*Гипотетический белок / Hypothetical protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
3	284339	–	Гипотетический белок / *Hypothetical protein*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (P > L)*
3	284346	–	Гипотетический белок / *Hypothetical protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
3	284350	–	Гипотетический белок / *Hypothetical protein*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (P >S)*
4	51	–	Гипотетический белок / *Hypothetical protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
7	143494	*oprM*	Белок внешней мембраны семейства oprm / *Oprm family outer membrane protein*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (A > D)*
7	254225	*argD*	Белок семейства аспартатамиокиназы / *Aspartate aminotransferase kinase family protein*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (R > G)*
7	254243	*argD*	Белок семейства аспартатамиокиназы / *Aspartate aminotransferase kinase family protein*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (W > C)*
7	254252	*argD*	Белок семейства аспартатамиокиназы / *Aspartate aminotransferase kinase family protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
8	21593	–	Гипотетический белок / *hypothetical protein*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (W > G)*
10	53504	*phnD*	Пермеаза ABC-транспортера / *ABC transporter permease*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (P > A)*
13	112745	*Ntk*	Домен нуклеотидилтрансферазы NT_kntase_like / *NT_kntase_like nucleotide transferase domain*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (P > R)*
13	185618	*dapA*	Белок семейства дигидродипиколинатсинтазы / *Dihydropicolinate synthase family protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
13	185634	*dapA*	Белок семейства дигидродипиколинатсинтазы / *Dihydropicolinate synthase family protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
13	185659	*dapA*	Белок семейства дигидродипиколинатсинтазы / *Dihydropicolinate synthase family protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
13	185664	*dapA*	Белок семейства дигидродипиколинатсинтазы / *Dihydropicolinate synthase family protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
13	185665	*dapA*	Белок семейства дигидродипиколинатсинтазы / *Dihydropicolinate synthase family protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
14	58878	*mdcB*	Трифосфорибозил-дефосфо-коа-синтаза / *Triphosphoribosyldeoxycoa synthase*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
14	72106	*PNTB*	B-субъединица AD(P)(+) трансгидрогеназы / B-*subunit of AD(P)(+) transhydrogenase*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (S > F)*
15	143206	*oprD*	Белок внешней мембраны семейства oprd / *Oprd family protein*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
17	36187	–	Гипотетический белок / *hypothetical protein*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (G > A)*
17	48054	*mopB*	Молибдоптеринзависимая оксидоредуктаза / *Molybdopterindependent oxidoreductase*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
19	11552	*rsmC*	SAM-зависимая метилтрансфераза I класса / *SAMdependent class i methyltransferase*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (P > R)*
19	85285	*pilY*	Белок сборки пилей IV типа / *Assembly protein pilus type IV*	Несинонимичная мутация / *Non-synonymous mutation (P > L)*
35	44419	*dipA*	Белок, содержащий домен дигуанилатциклазы / *Protein containing diguanylate cyclase domain*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*
35	44439	*dipA*	Белок, содержащий домен дигуанилатциклазы / *Protein containing diguanylate cyclase domain*	Синонимичная мутация / *Synonymous mutation*

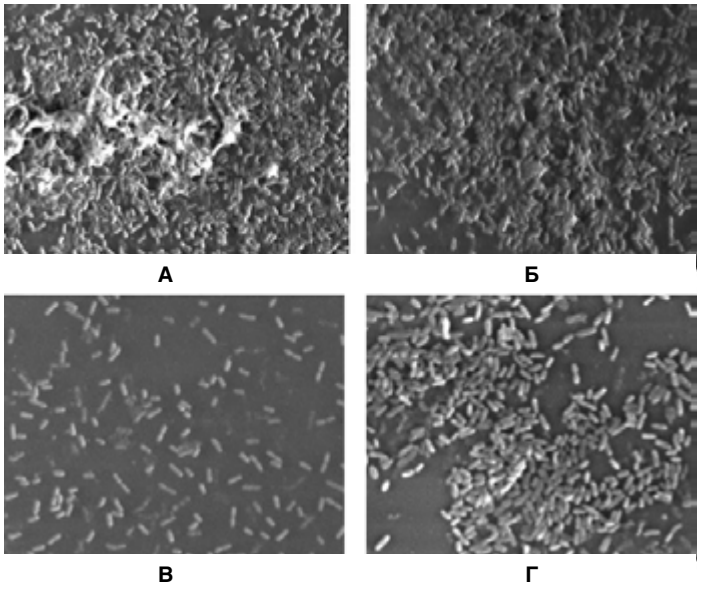


Рис. 3. **СЭМ-визуализация биопленок *P. aeruginosa*: А – сформированная биопленка *P. aeruginosa* ATCC 27853; В – сформированная биопленка фагоустойчивого варианта *P. aeruginosa*; С – биопленка *P. aeruginosa* ATCC 27853 после воздействия фага Ph_15; D – биопленка фагоустойчивого *P. aeruginosa* после воздействия фага Ph_15. Микроскоп Hitachi Regulus8230 (Hitachi, Япония) при увеличении объектива ×2000.**
*Fig. 3. **SEM visualization of P. aeruginosa biofilms: A – the formed biofilm of P. aeruginosa ATCC 27853; B – the formed biofilm of the phageresistant variant of P. aeruginosa; C – the biofilm of P. aeruginosa ATCC 27853 after exposure to phage Ph_15; D – the biofilm of phageresistant P. aeruginosa after exposure to phage Ph_15. The Hitachi Regulus8230 microscope (Hitachi, Japan) with a 2000× objective lens.***

Одно из объяснений развития устойчивости бактерий к фагам связано с рецепторами фагов. Бактерии могут избегать хищничества фагов, предотвращая их адсорбцию. Это может происходить из-за изменений в структуре рецепторов на поверхности бактериальной клетки или в их трехмерной конформации [29]. Известно что ЛПС внешней мембраны служат основными рецепторами для фагов phiIBB-PAA2 и vB_PaeM_CEB_DP1 [17].

В геномах фагоустойчивых вариантов были картированы точечные мутации в генах, обеспечивающих вирулентность и подвижности клетки. Так, например, ген *pilY* кодирует белок, который служит главным адгезином пилей IV типа [30]. Данный белок способен распознавать и связываться с рецепторами на поверхности эпителиальных клеток макроорганизма или абиотических поверхностях. Таким образом, замена жесткого аминокислотного остатка пролина на лейцин в первичной структуре *pilY* может повлечь за собой конформационные изменения домена, ответственного за механотрансдукцию или связывание с рецепторами. Также описанный белок сборки пилей IV типа может являться рецептром для литических фагов *P. aeruginosa*. В работе Ceyssens показано, что мутация в генах, ответственных за синтез пилей, приводит к приобретению устойчивости бактерий к бактериофагу LUZ19 [31]. Согласно указанным данным, можно предположить, что бактериофаг Ph_15 использует пили типа IV в качестве первичных рецепторов.

Воздействие бактериофага Ph_15 на биопленки референсного штамма и фагоустойчивого варианта P. aeruginosa

При исследовании активности фага Ph_15 в отношении биопленок для их моделирования использовали референсный штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853 и фагоустойчивый вариант, утративший способность к выработке окрашивающих пигментов. Критерием эффективности разрушения биопленки считали 100%-ю инактивацию бактериальных клеток в ее составе, о чем судили по отсутствию роста в жидкой питательной среде. Воздействие бактериофага на структуру биопленки оценивали визуально при помощи сканирующей электронной микроскопии (СЭМ).

При СЭМ-анализе структуры биопленки референс-штамма *P. aeruginosa* ATCC 27853 и фагоустойчивого варианта выявлена характерная трехмерная структура их организации. На микрофотографиях биопленок, полученных на поверхности покровного стекла, наблюдали трехмерную пространственную структуру организации биопленки с четко выделяющимися клетками, каналами, а также внеклеточный матрикс, окружающий клетки (рис. 3, A, B).

При воздействии бактериофага Ph_15 в течении 60 мин наблюдали разрушение экзополисахаридного матрикса для обоих вариантов биопленки, при этом в случае *P. aeruginosa* ATCC 27853 фаг обеспечивал значительное снижение числа живых клеток в биопленке (рис. 3, C) по сравнению с биопленкой фагоустойчивого варианта (рис. 3, D). Отсутствие полного лизиса бактериальных клеток в структуре биоплен-

Таблица 2. **Минимальные бактерицидные концентрации дезинфицирующих веществ в отношении планктонных культур и биопленок, сформированных *P. aeruginosa* ATCC 27853 и фагоустойчивым вариантом, обработанной фагом Ph_15**
*Table 2. **Minimum bactericidal concentrations of disinfectants against planktonic cultures and biofilms formed by P. aeruginosa ATCC 27853 and a phageresistant variant treated with phage Ph_15***

Дезинфицирующее вещество / *Disinfectant*	МБК дезинфицирующего вещества, % / *MBC of the disinfectant, %*					
	Планктонная культура / *Plankton culture*		Биопленка / Biofilm			
			Без фага / *no phage*		Обработка фагом Ph_15 / *with phage Ph_15*	
	P. a ATCC 27853	Фагоустойчивые варианты *P. a* / *Phage-resistant variants P. a*	*P. a* ATCC 27853	Фагоустойчивые варианты *P. a* / *Phage-resistant variants P. a*	*P. a* ATCC 27853	Фагоустойчивые варианты *P. a* / *Phage-resistant variants P. a*
Бензалкония хлорид / *Benzalkonium chloride*	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	1,0 ± 0,1	1,0 ± 0,1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
Перекись водорода / *peroxide*	2,0 ± 0,5	2,0 ± 0,5	5,0 ± 0,5	5,0 ± 0,5	2,0 ± 0,5	2,0 ± 0,5
Гипохлорит натрия / *Sodium hypochlorite*	0,075 ± 0,02	0,075 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,075 ± 0,02	0,075 ± 0,02
Ортофталевый альдегид / *Orthophthalic aldehyde*	0,1 ± 0,05	0,1 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,05	0,1 ± 0,05	0,1 ± 0,05

ки обоих штаммов указывает на ограниченную эффективность монотерапии бактериофагом. Данный факт обосновывает необходимость разработки комплексных схем, сочетающих применение бактериофагов и дезинфицирующих веществ, для достижения синергетического эффекта при деструкции биопленок *P. aeruginosa*.

Для сравнения эффективности использования комплексного метода разрушения биопленок, сформированных референсным штаммом *P. aeruginosa* ATCC 27853 и фагоустойчивым вариантом, покровные стекла с биопленкой после обработки бактериофагом Ph_15 переносили в растворы дезинфицирующих веществ (бензалкония хлорид, перекись водорода, гипохлорит натрия, ортофталевый альдегид) на 30 мин. После дезинфекционной выдержки проводили нейтрализацию действующего вещества. Критерием эффективности применения комплексной обработки для разрушения биопленки считали 100%-ю инактивацию бактериальных клеток в ее составе, о чем судили по отсутствию роста в жидкой питательной среде и при последующем пересеве на плотную среду.

Показано, что все исследуемые режимы комплексного применения бактериофага Ph_15 с дезинфицирующими веществами были одинаково эффективны для биопленок, сформированных как референсным штаммом *P. aeruginosa* ATCC 27853, так и фагоустойчивым вариантом (табл. 2).

Минимальная бактерицидная концентрация бензалкония хлорида в отношении биопленок обоих штаммов составила 0,3%, перекиси водорода – 2,0%, гипохлорита натрия – 0,075%, ортофталевого альдегида – 0,1%.

На основании полученных результатов была подтверждена возможность использования бактериофага Ph_15 для разрушения экзополисахаридного матрикса биопленок фагоустойчивых вариантов *P. aeruginosa*.

Заключение

Проведенные исследования подтверждают высокий потенциал бактериофагов как альтернативного терапевтического агента, способного эффективно разрушать полисахаридный матрикс биопленок и снижать численность жизнеспособных клеток *P. aeruginosa*. Вместе с тем продемонстрировано, что селективное давление фагов индуцирует быстрое формирование резистентных вариантов. При помощи полногеномного секвенирования и биоинформатического анализа данных установлено, что молекулярной основой фагорезистентности может являться накопление несинонимичных нуклеотидных замен. При этом обнаруженные полиморфизмы, предположительно, обусловливают конформационные изменения кодируемых белков, обеспечивая комплексную фенотипическую адаптацию *P. aeruginosa* к фаговой инфекции. В часности, можно предположить, что фагоустойчивые варианты претерпевают изменения в составе ЛПС и пилей типа IV вследствие мутаций в генах, кодирующих данные структуры.

Экспериментальное моделирование позволило оценить эффективность бактериофага Ph_15 и его комбинаций с дезинфицирующими веществами при воздействии на биопленки, сформированные чувствительным и резистентным штаммами *P. aeruginosa*. В работе показано, что монотерапия бактериофагом Ph_15 обеспечивает деструкцию экзополисахаридного матрикса биопленок референсного и фагорезистентного вариантов, но не приводит к полной инактивации клеток. Установлено, что комплексное использование бактериофага Ph_15 с дезинфицирующими веществами обеспечивает полную элиминацию зрелых биопленок обоих изучаемых штаммов. Полученные данные открывают перспективы применения данного бактериофага в комплексных схемах дезинфекции для борьбы с биопленками фагорезистентных штаммов *P. aeruginosa*.

Источники финансирования

Исследование выполнено в рамках отраслевой программы Роспотребнадзора.

Funding

The study was conducted as part of the Rospotrebnadzor industry research program.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии отношений, деятельности и интересов за последние три года, связанных с третьими лицами (коммерческими и некоммерческими организациями), интересы которых могут быть затронуты содержанием статьи.

Conflict of interest

The authors have no relationships, activities, or interests with third parties (commercial or non-commercial organizations) to declare that could have influenced the work reported in this paper in the last three years.

Вклад авторов

Все авторы подтверждают равное участие на всех этапах подготовки рукописи: разработка концепции, получение и анализ данных, написание и редактирование текста.

Все авторы одобрили рукопись (версию для публикации), а также согласились нести ответственность за все аспекты настоящей работы, гарантируют надлежащее рассмотрение и решение вопросов, связанных с точностью и добросовестностью любой ее части.

Author contributions

All authors contributed equally to this work, including conceptualization and design, data acquisition and analysis, manuscript writing and editing.

All authors have read and approved the final manuscript and agree to be accountable for all aspects of the work, ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Генеративный искусственный интеллект

При создании настоящей статьи технологии генеративного искусственного интеллекта не использовали.

Generative artificial intelligence

No generative artificial intelligence technologies were used in the preparation of this article.

Литература

1. Qin S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host,

technology advances and emerging therapeutics. Signal Transduct Target Ther. 2022 Jun 25;7(1):199. DOI: 10.1038/s41392-022-01056-1
2. Wood SJ, Kuzel TM, Shafikhani SH. *Pseudomonas aeruginosa*: Infections, Animal Modeling, and Therapeutics. Cells. 2023 Jan 3;12(1):199. DOI: 10.3390/cells12010199
3. Sawant S, Shaikh S, Baldwin TC, Karakoula A, Rahman A. *Pseudomonas aeruginosa*: associated pathogenesis, epidemiology, resistance mechanisms, host response and emerging treatment strategies. Arch Microbiol. 2026 Apr 24;208(7):351. DOI: 10.1007/s00203-026-04839-0
4. Horcajada JP, Montero MM, Luque S, Oliver A, Paterson DL. Current management strategies of difficult-to-treat resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. Infect Dis Clin North Am. 2026 Mar;40(1):41-60. DOI: 10.1016/j.idc.2025.11.001
5. Ramesh R, Rekha ND, Gopal S. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: treatment strategies to combat infection. Arch Microbiol. 2025 May 10;207(6):141. DOI: 10.1007/s00203-025-04346-8
6. David A, Tahrioui A, Tareau AS, Forge A, Gonzalez M, Bouffartigues E, et al. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm lifecycle: involvement of mechanical constraints and timeline of matrix production. antibiotics (Basel). 2024 Jul 24;13(8):688. DOI: 10.3390/antibiotics13080688
7. Elfadadny A, Ragab RF, AlHarbi M, Badshah F, Ibáñez-Arancibia E, Farag A, et al. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. Front Microbiol. 2024 Apr 5;15:1374466. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1374466
8. Eiselt VA, Bereswill S, Heimesaat MM. Phage therapy in lung infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* – A literature review. Eur J Microbiol Immunol (Bp). 2024 Jan 23;14(1):1-12. DOI: 10.1556/1886.2023.00060
9. Shen X, Liu A, Liang X, Zhang X. Phage: Future Treatment Direction for inflammatory bowel disease Patients. Microb Dis. 2024;1. DOI: 10.54844/md.2023.0434
10. Weiner I, Kahan-Hanum M, Buchstab N, Zelcbuch L, Navok S, Sherman I, et al. Phage therapy with nebulized cocktail BX004-A for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis: a randomized first-in-human trial. Nat Commun. 2025 Jul 1;16(1):5579. DOI: 10.1038/s41467-025-60598-4
11. Weissfuss C, Li J, Behrendt U, Hoffmann K, Bürkle M, Tan C, et al. Adjunctive phage therapy improves antibiotic treatment of ventilator-associated-pneumonia with *Pseudomonas aeruginosa*. Nat Commun. 2025 May 15;16(1):4500. DOI: 10.1038/s41467-025-59806-y
12. Chan BK, Stanley GL, Kortright KE, Vill AC, Modak M, Ott IM, et al. Personalized inhaled bacteriophage therapy for treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. Nat Med. 2025 May;31(5):1494-1501. DOI: 10.1038/s41591-025-03678-8
13. Rodriguez-Gonzalez RA, Balacheff Q, Debarbieux L, Marchi J, Weitz JS. Metapopulation model of phage therapy of an acute Pseudomonas aeruginosa lung infection. mSystems. 2024 Oct 22;9(10):e0017124. DOI: 10.1128/msystems.00171-24
14. Cunha GAD, Amaral RP, Dos Santos ALC, Aio BRF, Durante MFR, Malaquias LCC, et al. Phage therapy as an alternative strategy against *Pseudomonas aeruginosa*: a narrative review of preclinical and clinical evidence. Microbiologyopen. 2026 Jun;15(3):e70303. DOI: 10.1002/mbo3.70303
15. Makky S, Abdelrahman F, Rezk N, Easwaran M, El-Shibiny A. Phages for treatment *Pseudomonas aeruginosa* infection. Prog Mol Biol Transl Sci. 2023;201:1-19. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2023.03.014
16. Karamlou S, Aghajani J, Familsamavati M, Fallah Azad N, Arayesh S, Mohsenipour Z. Bacterial resistance to phage therapy: Mechanisms and strategies to overcome it. Current Molecular Pharmacology. 2025;18(1):108-122. DOI: 10.1016/j.cmp.2025.11.003
17. Pires DP, Dötsch A, Anderson EM, Hao Y, Khursigara CM, Lam JS, et al. A Genotypic analysis of five *P. aeruginosa* strains after biofilm infection by phages targeting different cell surface receptors. Front Microbiol. 2017 Jun 30;8:1229. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01229
18. Fu W, Forster T, Mayer O, Curtin JJ, Lehman SM, Donlan RM. Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* on catheters in an in vitro model system. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Jan;54(1):397-404. DOI: 10.1128/AAC.00669-09
19. Колупаева НВ, Кузин ВВ, Щербакова ОА, Колупаева ЛВ, Калмантаева ОВ, Сухаричева НА, и др. Характеристика литического фага Ph_15, активного в отношении биопленок *Pseudomonas aeruginosa*. Бактериология. 2025;10(3):42-50. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-3-42-50
20. Kachala VV, Khemchyan LL, Kashin AS, Orlov NV, Grachev AA, Zalesskiy SS, et al. Target-oriented analysis of gaseous, liquid, and solid chemical systems with mass spectrometry, nuclear magnetic resonance spectroscopy, and electron microscopy. Russian Chem. Reviews. 2013;82(7):648-685. DOI: 10.1070/RC2013v082n07ABEH004413
21. Кашин АС, Анаников ВП. Формирования наноразмерных покрытий и наночастиц металлов путем магнетронного распыления и их исследование методом сканирующей электронной микроскопии. Известия Академии наук. Серия химическая. 2011;12:2551-2556.
22. Unicycler: [software repository]. Developer R.R.Wick. Available at: https://github.com/rrwick/Unicycler (accessed 23.07.2026).
23. Snippy: [electronic resource]. OMICtools. Available at: https://omictools.com/snippy-tool/ (accessed 23.07.2026).
24. Mount DW. Using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). CSH Protoc. 2007 Jul 1;2007:pdb.top17. DOI: 10.1101/pdb.top17
25. Unipro UGENE: integrated bioinformatics tools: [electronic resource]. Available at: https://ugene.net/ (accessed 23.07.2026).
26. Racine E, Pantel L, Maurent K, Fuchs HLS, Sarciaux M, Houard J, et al. MexXY-OprM efflux pump mediates resistance to odilorhabdins in *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiol Spectr. 2026 Jul 7;14(7):e0046626. DOI: 10.1128/spectrum.00466-26
27. Wu W, Huang J, Xu Z. Antibiotic influx and efflux in *Pseudomonas aeruginosa*: Regulation and therapeutic implications. Microb Biotechnol. 2024 May;17(5):e14487. DOI: 10.1111/1751-7915.14487
28. Чеботарь ИВ, Бочарова ЮА, Маянский НА. Механизмы резистентности *Pseudomonas aeruginosa* к антибиотикам и их регуляция. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(4):308-319.
29. Даудова АД, Демина ЮЗ, Абдрахманова РО, Баева ГР, Рубальская ТС, Ясенявская АЛ, и др. Механизмы антифаговой защиты прокариотов. Антибиотики и химиотерапия. 2024;69(6):63-71. DOI: 10.37489/0235-2990-2024-69-5-6-63-71
30. Yount TA, Shukla N, Chang YW, St Geme JW 3rd. PilY proteins: bimodular drivers of type IV pilus versatility. Trends Microbiol. 2026 Apr;34(4):431-441. DOI: 10.1016/j.tim.2025.10.016
31. Ceyssens P-J. Characterization of the infection mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage LUZ19: diss. doc. in bioscience engineering. K.U.Leuven. Leuven, 2009. Available at: kuleuven.be (accessed 27.07.2026).

References

1. Qin S, Xiao W, Zhou C, Pu Q, Deng X, Lan L, et al. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. Signal Transduct Target Ther. 2022 Jun 25;7(1):199. DOI: 10.1038/s41392-022-01056-1
2. Wood SJ, Kuzel TM, Shafikhani SH. *Pseudomonas aeruginosa*: Infections, Animal Modeling, and Therapeutics. Cells. 2023 Jan 3;12(1):199. DOI: 10.3390/cells12010199
3. Sawant S, Shaikh S, Baldwin TC, Karakoula A, Rahman A. *Pseudomonas aeruginosa*: associated pathogenesis, epidemiology, resistance mechanisms, host response and emerging treatment strategies. Arch Microbiol. 2026 Apr 24;208(7):351. DOI: 10.1007/s00203-026-04839-0

4. Horcajada JP, Montero MM, Luque S, Oliver A, Paterson DL. Current management strategies of difficult-to-treat resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. Infect Dis Clin North Am. 2026 Mar;40(1):41-60. DOI: 10.1016/j.idc.2025.11.001
5. Ramesh R, Rekha ND, Gopal S. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: treatment strategies to combat infection. Arch Microbiol. 2025 May 10;207(6):141. DOI: 10.1007/s00203-025-04346-8
6. David A, Tahrioui A, Tareau AS, Forge A, Gonzalez M, Bouffartigues E, et al. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm lifecycle: involvement of mechanical constraints and timeline of matrix production. antibiotics (Basel). 2024 Jul 24;13(8):688. DOI: 10.3390/antibiotics13080688
7. Elfadadny A, Ragab RF, AlHarbi M, Badshah F, Ibáñez-Arancibia E, Farag A, et al. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas aeruginosa*: navigating clinical impacts, current resistance trends, and innovations in breaking therapies. Front Microbiol. 2024 Apr 5;15:1374466. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1374466
8. Eiselt VA, Bereswill S, Heimesaat MM. Phage therapy in lung infections caused by multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* – A literature review. Eur J Microbiol Immunol (Bp). 2024 Jan 23;14(1):1-12. DOI: 10.1556/1886.2023.00060
9. Shen X, Liu A, Liang X, Zhang X. Phage: Future Treatment Direction for inflammatory bowel disease Patients. Microb Dis. 2024;1. DOI: 10.54844/md.2023.0434
10. Weiner I, Kahan-Hanum M, Buchstab N, Zelcbuch L, Navok S, Sherman I, et al. Phage therapy with nebulized cocktail BX004-A for chronic *Pseudomonas aeruginosa* infections in cystic fibrosis: a randomized first-in-human trial. Nat Commun. 2025 Jul 1;16(1):5579. DOI: 10.1038/s41467-025-60598-4
11. Weissfuss C, Li J, Behrendt U, Hoffmann K, Bürkle M, Tan C, et al. Adjunctive phage therapy improves antibiotic treatment of ventilator-associated-pneumonia with *Pseudomonas aeruginosa*. Nat Commun. 2025 May 15;16(1):4500. DOI: 10.1038/s41467-025-59806-y
12. Chan BK, Stanley GL, Kortright KE, Vill AC, Modak M, Ott IM, et al. Personalized inhaled bacteriophage therapy for treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. Nat Med. 2025 May;31(5):1494-1501. DOI: 10.1038/s41591-025-03678-8
13. Rodriguez-Gonzalez RA, Balacheff Q, Debarbieux L, Marchi J, Weitz JS. Metapopulation model of phage therapy of an acute *Pseudomonas aeruginosa* lung infection. mSystems. 2024 Oct 22;9(10):e0017124. DOI: 10.1128/msystems.00171-24
14. Cunha GAD, Amaral RP, Dos Santos ALC, Aio BRF, Durante MFR, Malaquias LCC, et al. Phage therapy as an alternative strategy against *Pseudomonas aeruginosa*: a narrative review of preclinical and clinical evidence. Microbiologyopen. 2026 Jun;15(3):e70303. DOI: 10.1002/mbo3.70303
15. Makky S, Abdelrahman F, Rezk N, Easwaran M, El-Shibiny A. Phages for treatment *Pseudomonas aeruginosa* infection. Prog Mol Biol Transl Sci. 2023;201:1-19. DOI: 10.1016/bs.pmbts.2023.03.014
16. Karamlou S, Aghajani J, Familsamavati M, Fallah Azad N, Arayesh S, Mohsenipour Z. Bacterial resistance to phage therapy: Mechanisms and strategies to overcome it. Current Molecular Pharmacology. 2025;18(1):108-122. DOI: 10.1016/j.cmp.2025.11.003
17. Pires DP, Dötsch A, Anderson EM, Hao Y, Khursigara CM, Lam JS, et al. A Genotypic analysis of five *P. aeruginosa* strains after biofilm infection by phages targeting different cell surface receptors. Front Microbiol. 2017 Jun 30;8:1229. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01229
18. Fu W, Forster T, Mayer O, Curtin JJ, Lehman SM, Donlan RM. Bacteriophage cocktail for the prevention of biofilm formation by *Pseudomonas aeruginosa* on catheters in an in vitro model system. Antimicrob Agents Chemother. 2010 Jan;54(1):397-404. DOI: 10.1128/AAC.00669-09
19. Kolupaeva NV, Kuzin VV, Shcherbakova OA, Kolupaeva LV, Kalmantaeva OV, Sukharicheva NA, et al. Study of phage and disinfectants combination combined for the destruction of *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Bacteriology. 2025;10(3):42-50. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-3-42-50 (In Russian).
20. Kachala VV, Khemchyan LL, Kashin AS, Orlov NV, Grachev AA, Zalesskiy SS, et al. Target-oriented analysis of gaseous, liquid, and solid chemical systems with mass spectrometry, nuclear magnetic resonance spectroscopy, and electron microscopy. Russian Chem. Reviews. 2013;82(7):648-685. DOI: 10.1070/RC2013v082n07ABEH004413
21. Kashin AS, Ananikov VP. Formation of nanoscale coatings and metal nanoparticles by magnetron sputtering and their study using scanning electron microscopy. Proceedings of the Academy of Sciences. Chemical Series. 2011;60(12):2551-2556. (In Russian).
22. Unicycler: [software repository]. Developer R.R.Wick. Available at: https://github.com/rrwick/Unicycler (accessed 23.07.2026).
23. Snippy: [electronic resource]. OMICtools. Available at: https://omictools.com/snippy-tool/ (accessed 23.07.2026).
24. Mount DW. Using the Basic Local Alignment Search Tool (BLAST). CSH Protoc. 2007 Jul 1;2007:pdb.top17. DOI: 10.1101/pdb.top17
25. Unipro UGENE: integrated bioinformatics tools: [electronic resource]. Available at: https://ugene.net/ (accessed 23.07.2026).
26. Racine E, Pantel L, Maurent K, Fuchs HLS, Sarciaux M, Houard J, et al. MexXY-OprM efflux pump mediates resistance to odilorhabdins in *Pseudomonas aeruginosa*. Microbiol Spectr. 2026 Jul 7;14(7):e0046626. DOI: 10.1128/spectrum.00466-26
27. Wu W, Huang J, Xu Z. Antibiotic influx and efflux in *Pseudomonas aeruginosa*: Regulation and therapeutic implications. Microb Biotechnol. 2024 May;17(5):e14487. DOI: 10.1111/1751-7915.14487
28. Chebotar IV, Bocharova YuA, Mayansky NA. Mechanisms and regulation of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2017;19(4):308-319. (In Russian).
29. Daudova AD, Demina YuZ, Abdrakhmanova RO, Baeva GR, Rubalskaia TS, Yasenyavskaya AL, et al. Mechanisms of antiphage defense in prokaryotes. Antibiotics and Chemotherapy. 2024;69(6):63-71. DOI: 10.37489/0235-2990-2024-69-5-6-63-71 (In Russian).
30. Yount TA, Shukla N, Chang YW, St Geme JW 3rd. PilY proteins: bimodular drivers of type IV pilus versatility. Trends Microbiol. 2026 Apr;34(4):431-441. DOI: 10.1016/j.tim.2025.10.016
31. Ceyssens P-J. Characterization of the infection mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* bacteriophage LUZ19: diss. doc. in bioscience engineering. K.U.Leuven. Leuven, 2009. Available at: kuleuven.be (accessed 27.07.2026).

Информация о соавторах:

Щербакова Ольга Анатольевна, младший научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Колупаева Надежда Вячеславовна, научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Кузина Екатерина Сергеевна, кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Колупаева Любовь Вячеславовна, младший научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Грищенко Наталья Семёновна, научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Рудницкая Татьяна Ивановна, научный сотрудник отдела подготовки и усовершенствования специалистов ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Перчиков Роман Николаевич, младший научный сотрудник лаборатории биологически активных соединений и биокомпозитов Тульского государственного университета

Детушева Елена Владимировна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Information about co-authors:

Olga A. Shcherbakova, Junior Researcher of the Department for training and improvement of specialists, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Nadezhda V. Kolupaeva, Researcher of Department for training and improvement of specialists, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Ekaterina S. Kuzina, PhD in Biological Sciences, Researcher of Department for training and improvement of specialists, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Lyubov V. Kolupaeva, Junior Researcher of Department for training and improvement of specialists, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Natalya S. Grishchenko, Researcher of Department for training and improvement of specialists, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

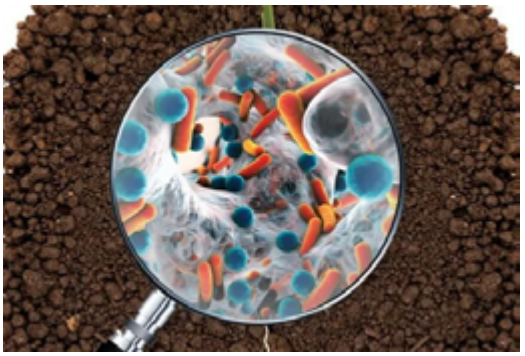
Tatyana I. Rudnitskaya, Researcher of Department for training and improvement of specialists, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

Roman N. Perchikov, Junior Researcher at the laboratory of biologically active compounds and biocomposites, Tula State University

Elena V. Detusheva, PhD in Biological Sciences, Researcher of the Laboratory of Antimicrobial Preparations in the Department of Molecular Microbiology, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology of Rospotrebnadzor

НОВОСТИ НАУКИ

Улучшение понимания экологических микробиомов посредством тематического моделирования: количественный и качественный анализ



Понимание динамики экосистем имеет решающее значение для оценки их состояния, однако это остается сложной задачей из-за запутанных биотических и абиотических взаимодействий. Микробные сообщества являются ценными индикаторами изменений окружающей среды, но высокая размерность данных микробиома требует применения продвинутых аналитических методов. В данном исследовании изучается использование тематического моделирования (ТМ) – метода обучения без учителя из области машинного обучения, изначально разработанного для анализа текстов, – для анализа данных микробиома динамичного эстуария Варно в южной части побережья Балтийского моря.

Мы применили тематическое моделирование к данным микробного состава эстуарного биома и сравнили его эффективность с традиционными методами снижения размерности: методом главных компонент (PCA) и методом главных координат (PCoA). Количественные результаты показывают, что ТМ сопоставим с традиционными подходами по сохранению экологической и функциональной информации, а в некоторых аспектах даже превосходит их. Кроме того, мы качественно демонстрируем, что метод неотрицательной матричной факторизации (NNMF), являющийся разновидностью тематического моделирования, улавливает скрытые закономерности в данных, обеспечивая интерпретируемую перспективу микробиома. В рамках данного исследовательского подхода NNMF выявил пять различных субсообществ внутри эстуария, которые, по всей видимости, следуют сезонной смене, обусловленной притоком пресной воды. Эти субсообщества были связаны с определенными диапазонами солености и температуры и имели отчетливые таксономические профили с общими характеристиками во всей эстуарной системе.

Эти результаты позволяют предположить, что тематическое моделирование является полезным инструментом для изучения сложных наборов данных микробиома окружающей среды, предлагая дополнительную перспективу, которая может дать новые экологические сведения. Способность ТМ выделять согласованные паттерны микробных сообществ указывает на его потенциал в поддержке мониторинга окружающей среды и информировании целевого управления экосистемами в динамичных средах, хотя для полной оценки применимости метода требуются дальнейшие исследования.

Kujat AS, Hassenrück C, Lüdtke S, Labrenz M, Sperlea T. Enhancing the understanding of environmental microbiomes through topic modeling: a quantitative and qualitative analysis. Environ Microbiome. 2026 Jul 15;21(1):90. DOI: 10.1186/s40793-026-00927-2