

ВЛИЯНИЕ НЕЙТРОФИЛОВ И ИХ ЭКЗОПРОДУКТОВ НА БИОМАССУ БИОПЛЕНКИ, ЖИЗНЕСПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИЙ И КОНЬЮГАТИВНЫЙ ПЕРЕНОС В КЛЕТКИ *ESCHERICHIA COLI*



И.Л. Масленникова¹, И.В. Некрасова¹, М. Старчич Эрьявец², М.В. Кузнецова¹

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук, г. Пермь, Россия

² Люблянский университет, Любляна, Словения

Резюме. Цель данного исследования — изучить влияние нейтрофилов и их антимикробных факторов, перекиси водорода и дефензина α , на биомассу биопленки, жизнеспособность входящих в нее бактерий и эффективность конъюгативного переноса плазмиды pOX38:Сm от штамма *E. coli* N4i pOX38:Сm в разные штаммы *E. coli* (комменсальный K12 TG1 и уropатогенные DL82, R32, R45). Массивность биопленки реципиента *E. coli* K12 TG1 с донором *E. coli* N4i pOX38:Сm увеличивалась при добавлении нейтрофилов в концентрации 10^5 кл/мл по сравнению с контролем, в то время как биомасса биопленки снижалась у уropатогенных штаммов *E. coli* DL82/*E. coli* R45 с донором с $10^6/10^4$ – 10^6 кл/мл нейтрофилов, соответственно. Выживаемость реципиентов *E. coli* K12 TG1 и транс-конъюгантов в биопленке была выше при добавлении всех концентраций нейтрофилов по сравнению с контролем. Действие 0,1 мМ H_2O_2 увеличивало показатель биомассы биопленки *E. coli* DL82 и *E. coli* R45, а концентрации 0,5 мМ для DL82 и 0,5 мМ, 2,5 мМ для R45 снижали биомассу биопленки бактерий в составе конъюгативной смеси. Частота конъюгативного переноса плазмиды pOX38:Сm была ниже в присутствии 2,5 мМ H_2O_2 в биопленке N4i pOX38:Сm \times DL82, а также в присутствии 0,5 и 2,5 мМ H_2O_2 в биопленке N4i pOX38:Сm \times R45 по сравнению с контролем. Частота конъюгации от донора *E. coli* N4i pOX38:Сm в *E. coli* DL82 снижалась при добавлении 5 или 25 нг/мл дефензина α , а частота конъюгации в биопленке N4i pOX38:Сm \times R45 снижалась при добавлении 5 нг/мл, тогда как при добавлении 25 нг/мл — увеличивалась.

Ключевые слова: UPEC, биопленки, нейтрофилы, активные формы кислорода, дефензин α , конъюгация.

THE INFLUENCE OF NEUTROPHILS AND THEIR EXOPRODUCTS ON BIOFILM BIOMASS, BACTERIAL VIABILITY AND CONJUGATIVE TRANSFER INTO *ESCHERICHIA COLI*

Maslennikova I.L.^a, Nekrasova I.V.^a, Starčič Erjavec M.^b, Kuznetsova M.V.^a

^a Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms Ural Branch Russian Academy of Science, Perm, Russian Federation

^b University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Abstract. The purpose of this study was to investigate the effect of neutrophils and their antimicrobial factors, hydrogen peroxide and defensin α , on the biofilm biomass, the viability of bacteria in the biofilm and the efficiency of conjugative

Адрес для переписки:

Масленникова Ирина Леонидовна
614081, Россия, г. Пермь, ул. Голева, 13,
Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН.
Тел.: 8 (342) 280-74-42. Факс: 8 (342) 280-92-11.
E-mail: I.Maslennikova1974@gmail.com

Contacts:

Irina L. Maslennikova
614081, Russian Federation, Perm, Goleva str., 13,
Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB of RAS.
Phone: +7 (342) 280-74-42. Fax: +7 (342) 280-92-11.
E-mail: I.Maslennikova1974@gmail.com

Для цитирования:

Масленникова И.Л., Некрасова И.В., Старчич Эрьявец М.,
Кузнецова М.В. Влияние нейтрофилов и их экзопродуктов на биомассу
биопленки, жизнеспособность бактерий и конъюгативный перенос
в клетки *Escherichia coli* // Инфекция и иммунитет. 2024. Т. 14, № 3.
С. 511–518. doi: 10.15789/2220-7619-TIO-16691

Citation:

Maslennikova I.L., Nekrasova I.V., Starčič Erjavec M., Kuznetsova M.V.
The influence of neutrophils and their exoproducts on biofilm biomass,
bacterial viability and conjugative transfer into *Escherichia coli* // Russian
Journal of Infection and Immunity = Infektsiya i immunitet, 2024, vol. 14,
no. 3, pp. 511–518. doi: 10.15789/2220-7619-TIO-16691

Работа выполнена в рамках государственного задания № 124020500027-7.

The work was performed within the framework of the state assignment No. 124020500027-7.

transfer of the pOX38:Cm plasmid from the *E. coli* N4i pOX38:Cm strain into different *E. coli* strains (commensal K12 TG1 and uropathogenic DL82, R32 and R45). The biofilm of the recipient *E. coli* TG1 with the donor *E. coli* N4i pOX38:Cm increased when 10^5 cells/ml of neutrophils were added compared to the control, while the biofilm biomass of the uropathogenic *E. coli* recipient strains DL82/*E. coli* R45 with the donor *E. coli* N4i pOX38:Cm decreased when $10^6/10^4$ – 10^6 cells/ml of neutrophils were added, respectively. The survival of recipient *E. coli* TG1 cells and transconjugants in the biofilm was, compared to the control, higher when 10^4 , 10^5 , 10^6 cells/ml of neutrophils were added. The addition of 0.1 mM H_2O_2 increased biofilm formation of *E. coli* DL82 and *E. coli* R45, and addition of 0.5 mM H_2O_2 reduced biofilm formation of *E. coli* DL82, while 0.5 mM or 2.5 mM reduced the *E. coli* R45 bacterial biofilm biomass in the conjugative mixture. The frequency of the pOX38:Cm conjugative transfer was lower in the presence of 2.5 mM H_2O_2 in the N4i pOX38:Cm \times DL82 biofilm, and also in the presence of 0.5 and 2.5 mM H_2O_2 in the N4i pOX38:Cm \times R45 biofilm, compared to the control. The frequency of pOX38:Cm conjugation from the donor *E. coli* N4i pOX38:Cm into *E. coli* DL82 decreased, when 5 or 25 ng/ml defensin α were added and the conjugation frequency in the mating mixture N4i pOX38:Cm \times R45 decreased, when 5 ng/ml were added, while, when 25 ng/ml of defensin α were added it increased.

Key words: UPEC, biofilms, neutrophils, reactive oxygen species, defensin α , conjugation.

Введение

Молекулярные механизмы хронических бактериальных инфекций и, в частности, инфекций мочевыводящих путей (ИМВП) активно изучаются во всем мире. Основным возбудителем ИМВП являются представители уропатогенных *Escherichia coli* (УРЕС), которые имеют тенденцию образовывать на биотических и абиотических поверхностях биопленки, либо внедряться в слизистую оболочку мочевого пузыря, который становится резервуаром бактерий, что обуславливает развитие хронических рецидивирующих инфекций и, как следствие, деструктивных процессов [5, 9]. Биопленка может быть местом, где изменения генома, а именно приобретение резистентности к антибиотикам или факторов патогенности, могут осуществляться при горизонтальном переносе генов путем конъюгации [11]. Известно, что конъюгативный перенос вносит дополнительную динамику в биопленкообразование за счет усиленной экспрессии клетками факторов слипания во время передачи плазмиды [4]. Плазмиды могут являться инструментом генетического разнообразия, способствуя эволюции кодируемых плазмидами генов бактерий [18].

В составе биопленки бактерии являются недоступными как для самих клеток иммунной системы (фагоцитов/нейтрофилов), так и для бактерицидных кислородзависимых (активные формы кислорода, МПО и т. д.) и кислороднезависимых (α -дефензины, лизоцим, катепсин G и т. д.) факторов. Вирулентность микроорганизмов, свойства внеклеточного матрикса ограничивают возможность контроля нейтрофилами и другими эффекторами иммунитета процесса биопленкообразования и последующего распространения бактерий.

Экспрессия вирулентных генов УРЕС, с одной стороны, может влиять на их биопленкообразование, а с другой — может иметь опосредо-

ванное влияние и на функции нейтрофилов [14, 15, 17, 19]. Ранее мы показали, что клетки и супернатанты бактерий *E. coli* снижали жизнеспособность и стимулировали ранний апоптоз нейтрофилов [10]. Характер взаимодействия нейтрофилов с биопленками штаммов с высоким патогенным потенциалом определялся, в основном, на уровне действия «биопленочных» супернатантов за счет лизиса фагоцитов. Напротив, супернатанты штаммов с ограниченным набором вирулент-ассоциированных генов не вызывали гибели и уход в апоптоз нейтрофилов по сравнению с бактериальными клетками, что позволяло фагоцитам внедряться в массивную биопленку и частично разрушать ее. В соответствии с этим была выдвинута гипотеза, что горизонтальный перенос генов может определяться факторами патогенности реципиентов, связанными как с образованием биопленок, так и с факторами, вызывающими изменения функций клеток врожденного иммунитета.

Цель данного исследования — изучить влияние нейтрофилов и их антимикробных факторов, перекиси водорода и дефензина α , на биомассу биопленки, жизнеспособность входящих в нее бактерий и эффективность конъюгативного переноса в клетки штаммов *E. coli*.

Материалы и методы

В работе использовали комменсальный штамм *E. coli* K12 TG1 [1]. Референтный уропатогенный *E. coli* DL82 и *E. coli* N4i pOX38:Cm получены из коллекции группы молекулярной генетики биотехнологического факультета Люблянского университета (Словения). Штаммы *E. coli* R32, *E. coli* R45 [8] были выделены от пациентов с ИМВП, госпитализированных в стационары г. Перми, и депонированы в коллекцию Ex culture Люблянского университета (Словения). Набор вирулентных факторов,

филогруппа и коровый профиль представлен в работе Kuznetsova et al. [8]. Штаммы *E. coli* K12 TG1, *E. coli* DL82, *E. coli* R32, *E. coli* R45 использовали в качестве реципиентов плазмиды, а *E. coli* N4i pOX38:Сm — в качестве донора в конъюгативной смеси.

Нейтрофилы периферической крови здоровых мужчин ($n = 3-4$) выделяли на двойном градиенте фиколл-урографина (1,077 и 1,112 г/мл). От всех доноров было получено письменное информированное согласие при сдаче крови в соответствии с правилами этического комитета ИЭГМ УрО РАН. Жизнеспособность нейтрофилов в тесте с трипановым синим составила 97%.

В работе использовали дефензин α нейтрофилов (HNPI-3) (DEFa1, Cloud-Clone Corp., США) в концентрациях 5, 25, 50 нг/мл, перекись водорода (AppliChem, Германия) — в концентрациях 0,02–2,5 мМ.

Биопленки *E. coli* TG1, *E. coli* DL82, *E. coli* R32, *E. coli* R45 получали в 96-луночных полистироловых планшетах (ApexLab, Китай) при выращивании штаммов в LB (Luria-Bertani; Sigma-Aldrich) среде в течение 24 ч при 37°C статически. Биопленки отмывали 3-кратно с использованием 0,9% NaCl.

Конъюгативный перенос осуществляли в 24-ч биопленке путем добавления суспензии (100 мкл) донорного штамма *E. coli* N4i pOX38:Сm, активированного 2 ч на среде RPMI 1640 basic (Thermo Fisher Scientific, США). Затем к конъюгативной смеси приливали 100 мкл суспензии нейтрофилов в концентрации 10^4 , 10^5 , 10^6 кл/мл; или 100 мкл перекиси водорода в конечной концентрации 0,02; 0,1; 0,5; 2,5 мМ; или 100 мкл дефензина α — 5, 25, 50 нг/мл. В контроль конъюгативной смеси добавляли среду RPMI. После 4 ч культивирования с бактериальными биопленками межклеточный комплекс отмывали, биопленки разрушали в ультразвуковой ванне Elma Ultrasonic 30S (Elma, Германия) (1 мин \times 5 при 37 кГц), а затем делали высевы на LB агар с ампициллином (120 мкг/мл) для реципиентов, гентамицином (15 мкг/мл) для доноров, ампициллином (120 мкг/мл) и хлорамфениколом (50 мкг/мл) для трансконъюгантов. Частоту конъюгации рассчитывали как отношение числа трансконъюгантов к числу реципиентов [6]. Биомассу конъюгативной смеси с/без нейтрофилов определяли согласно [16].

Статистический анализ проводили в программе Statistica 6.0. Данные представлены в виде среднего арифметического и стандартного отклонения. t-критерий Стьюдента (t-критерий) использовали для оценки массивности биопленки и выживаемости, критерий Вилкоксона для оценки частоты конъюгации. Порог статисти-

ческой значимости был установлен на уровне $p < 0,05$. Корреляционный анализ проводился с использованием коэффициента Пирсона.

Результаты и обсуждение

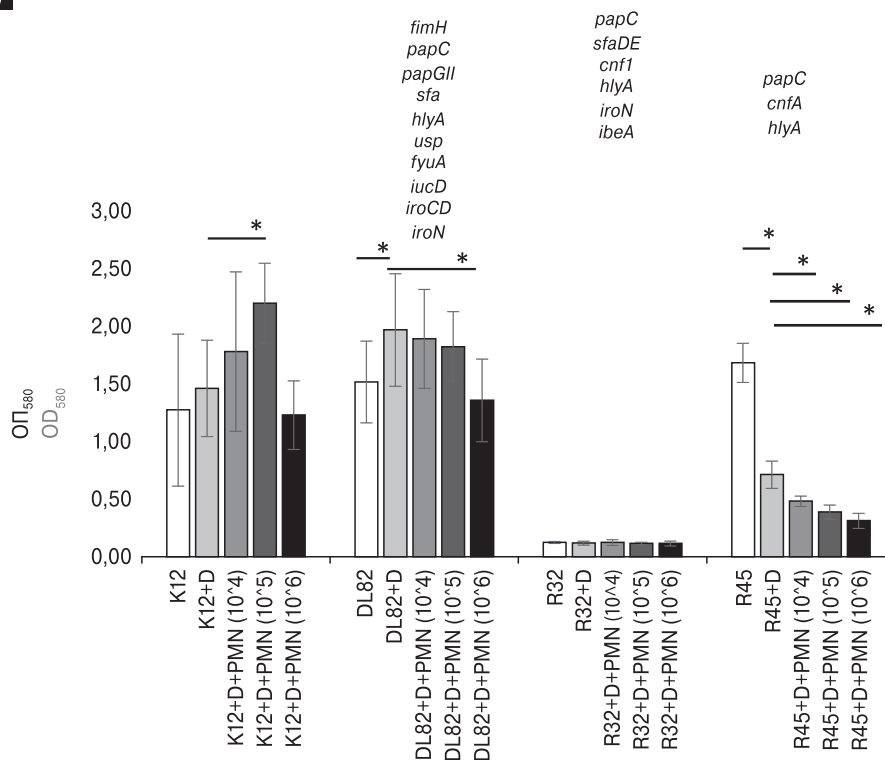
Показано, что массивность биопленки комменсального штамма *E. coli* TG1, уропатогенного низкобиопленочного штамма R32 при добавлении донора *E. coli* N4i pOX38:Сm не изменялась, биомасса биопленки DL82 и донора в этих же условиях возрастала, тогда как у R45 — снижалась (рис. 1А). Добавление нейтрофилов в концентрации 10^4-10^5 клеток/мл к смешанной биопленке *E. coli* TG1 и *E. coli* N4i pOX38:Сm вызывало увеличение ее величины относительно контроля. Повышение концентрации нейтрофилов до 10^6 клеток/мл выражено снижало биомассу биопленки. В противоположность комменсальному штамму влияние нейтрофилов на биопленки уропатогенных штаммов *E. coli* DL82 и R45 было прямо пропорционально их концентрации. Оценить влияние нейтрофилов на величину смешанной биопленки штамма R32 было сложно, в связи с малой величиной показателя толщины биопленки.

Выживаемость реципиентов и трансконъюгантов в биопленке была выше при действии нейтрофилов в концентрации 10^4 , 10^5 , 10^6 кл/мл у штамма *E. coli* K12 TG1 по сравнению с контролем (рис. 1Б). Число бактерий донорного штамма было выше в конъюгативной смеси DL82 с *E. coli* N4i pOX38:Сm в присутствии 10^4 клеток/мл нейтрофилов и снижалось при повышении концентрации нейтрофилов.

Частота конъюгативного переноса в варианте с нейтрофилами варьировала в опытных вариантах в пределах $2,45-4,65 \times 10^{-4}$, в контроле — $5,27 \times 10^{-4}$, однако, без достоверной разницы (рис. 2). Наблюдалась тенденция к снижению частоты конъюгации при увеличении концентрации нейтрофилов у уропатогенных штаммов и противоположная у комменсального штамма. Достоверная положительная корреляция между концентрацией нейтрофилов и частотой конъюгации показана для штамма *E. coli* K12 TG1 ($p = 0,02$), отрицательная — для R45 ($p = 0,04$).

На рис. 3А представлены данные биомассы биопленки штаммов DL82 и R45 с донором в присутствии перекиси водорода. Показано, что добавление 0,1 мМ H_2O_2 увеличивало показатель биомассы биопленки обоих штаммов. Более высокие концентрации перекиси (0,5 мМ) снижали биомассу биопленки бактерий в составе конъюгативной смеси. Количество реципиентов в составе биопленки не зависело от присутствия H_2O_2 . Выживаемость доноров и трансконъюгантов в конъюгативной сме-

А (А)



Б (Б)

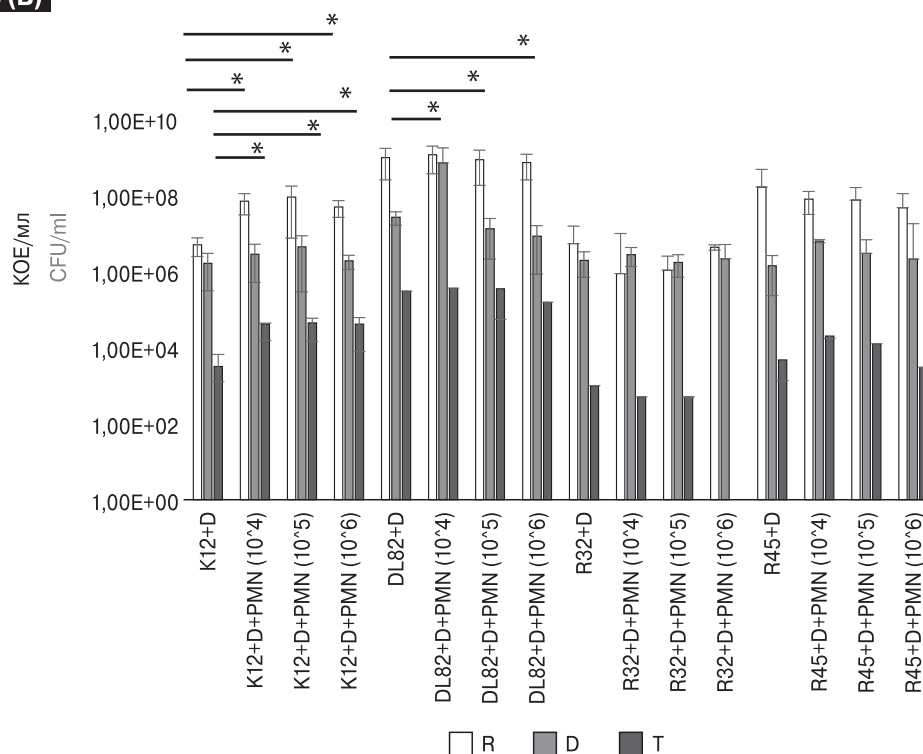


Рисунок 1. Биомасса биопленок (А) и выживаемость реципиентов *E. coli* K12 TG1, DL82, R32, R45 (R), донора *E. coli* N4i рOX38:Сm (D), трансконъюгантов (Т) (Б) в конъюгативной смеси в присутствии нейтрофилов (PMN)

Figure 1. Biofilm biomass (A) and survival of recipients *E. coli* K12 TG1, DL82, R32, R45 (R), donor *E. coli* N4i рOX38:Сm (D), transconjugants (T) (B) in the conjugative mixture in the presence of neutrophils (PMN)

Примечание. Число нейтрофилов — 10^4 (10^4), 10^5 (10^5), 10^6 (10^6) кл./мл. * — достоверные отличия между значениями при $p < 0,05$.

Note. The number of neutrophils is 10^4 (10^4), 10^5 (10^5), 10^6 (10^6) cells/ml. * — significant differences between values at $p < 0.05$.

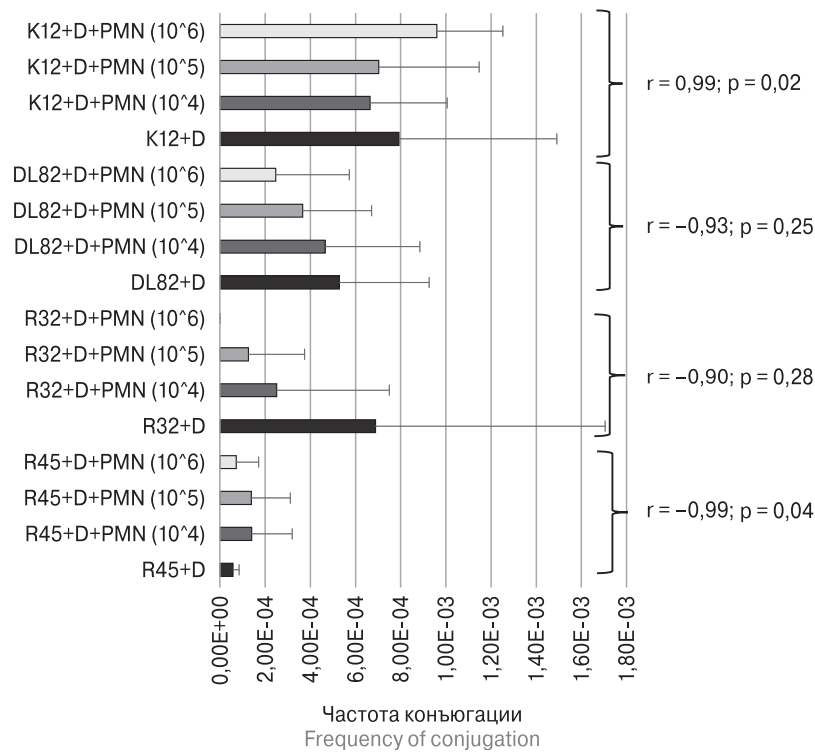


Рисунок 2. Частота конъюгации комменсального *E. coli* K12 TG1, уропатогенных штаммов *E. coli* (DL82, R32, R45) с донором *E. coli* N4i pOX38 (D) в присутствии нейтрофилов (PMN)

Figure 2. Frequency of conjugation of commensal *E. coli* K12 TG1, uropathogenic *E. coli* strains (DL82, R32, R45) with the donor *E. coli* N4i pOX38 (D) in the presence of neutrophils (PMN)

Примечание. Число нейтрофилов — 10⁴ (10⁴), 10⁵ (10⁵), 10⁶ (10⁶) кл/мл. * — достоверные отличия между значениями при p < 0,05.

Note. The number of neutrophils is 10⁴ (10⁴), 10⁵ (10⁵), 10⁶ (10⁶) cells/ml. * — significant differences between values at p < 0.05.

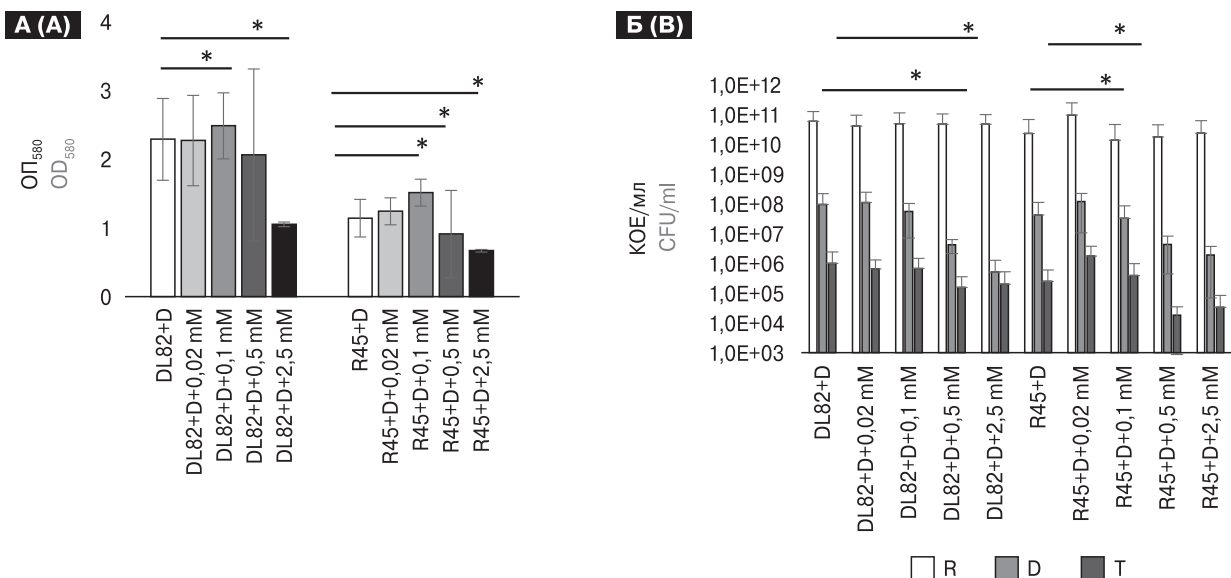


Рисунок 3. Биомасса биопленок (А) и выживаемость реципиентов *E. coli* DL82, R45 (R), донора *E. coli* N4i pOX38 (D), трансконъюгантов (Т) (Б) в конъюгативной смеси в присутствии перекиси водорода

Figure 3. Biofilm biomass (A) and survival of recipients *E. coli* DL82, R45 (R), donor *E. coli* N4i pOX38 (D), transconjugants (T) (B) in a conjugative mixture in the presence of hydrogen peroxide

Примечание. * — достоверные отличия между значениями при p < 0,05.

Note. * — significant differences between values at p < 0.05.

си снижалась при концентрации перекиси 0,5 мМ и выше (рис. 3В). Частота конъюгативного переноса была ниже при действии 2,5 мМ H_2O_2 в биопленке DL82, и при 0,5 и 2,5 мМ H_2O_2 в биопленке R45 (рис. 4).

На рис. 5 представлены данные по конъюгативному переносу в биопленках уропатогенных штаммов в присутствии дефензина α . Показано отсутствие влияния дефензина в исследуемой концентрации на количество реципиентов в смешанной биопленке обоих уропатогенных штаммов. Количество доноров снижалось при 50 нг/мл в биопленке со штаммом DL82, и при 5 нг/мл — со штаммом R45 (рис. 5А). Частота конъюгации в клетки DL82 снижалась при 5 и 25 нг/мл дефензина α по сравнению с контролем, у R45 снижался уровень горизонтального переноса при 5 нг/мл и повышался при 25 нг/мл (рис. 5В).

Плазмиды играют ключевую роль в экологии и эволюции бактерий, поскольку они мобилизуют дополнительные гены путем горизонтального переноса генов [18]. Высокий уровень разнообразия признаков, кодируемых плазмидами, обеспечивает основу для изучения потенциала плазмид в качестве резервуаров адаптивных признаков для микробных сообществ. Показано, что нейтрофилы «притягиваются» к биопленкам посредством хемотаксических активных молекул, высвобождаемых иммунокомпетентными клетками [7]. По данным нашего исследования увеличение биомассы биопленки было характерно только для комменсального штамма, но не для уропатогенных (рис. 1). Увеличение показателя биомассы смешанной

биопленки с комменсальным штаммом сопровождалось и увеличением числа доноров в конъюгативной смеси (рис. 1В). Таким образом, вирулентный потенциал штаммов может влиять на характер взаимодействия сформированной ими биопленки с факторами иммунного ответа.

Как показано в ранних работах, комменсальные штаммы довольно активно запускали апоптозные механизмы нейтрофилов [10]. Не исключено, что данный процесс сопровождается усилением конъюгативных процессов с увеличением числа нейтрофилов (рис. 2), что показано для штамма *E. coli* K12 TG1 и является необходимым условием для увеличения разнообразия бактериальной популяции при наличии внешнего прессинга в виде факторов врожденного иммунитета. Напротив, у UPEC штаммов наблюдалась тенденция к снижению частоты конъюгации при увеличении числа нейтрофилов, достоверная корреляция показана для штамма R32. Острые воспалительные реакции со стороны факторов врожденного иммунитета обусловлены реализацией вирулентного потенциала штаммов UPEC штаммов, которая в итоге приводит к снижению биомассы биопленки и числа участников конъюгативного процесса.

Перекись водорода в составе активных форм кислорода в концентрации 0,001–0,01 мМ выполняет роль вторичного мессенджера, участвующего в регуляции разнообразных сигнальных процессов; 0,02–0,1 мМ H_2O_2 присутствует в местах воспаления [2]. Продукция активных форм кислорода (АФК) осуществляется нейтрофилами, участвующими в защитной ре-

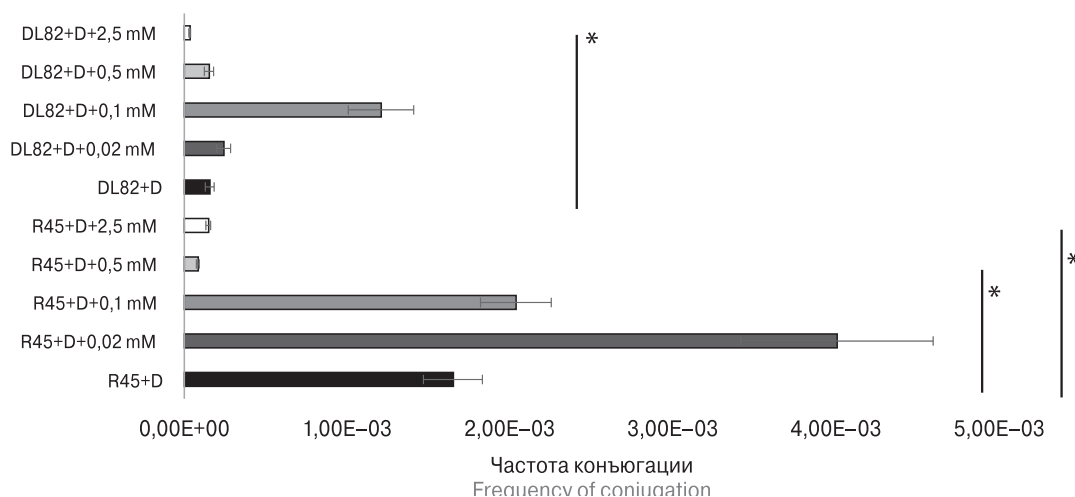


Рисунок 4. Частота конъюгации уропатогенных штаммов *E. coli* (DL82, R45) с донором *E. coli* N4i pOX38 (D) в присутствии перекиси водорода

Figure 4. Frequency of conjugation of uropathogenic *E. coli* strains (DL82, R45) with the donor *E. coli* N4i pOX38 (D) in the presence of hydrogen peroxide

Примечание. * — достоверные отличия между значениями при $p < 0,05$.

Note. * — significant differences between values at $p < 0.05$.

акции хозяина, в ответ на внешние патогены. Генерация внеклеточных АФК является стратегией нападения на биопленки [7], способствуя повреждению ее поверхностных слоев, межклеточного матрикса. По данным наших исследований, присутствие перекиси водорода в физиологических концентрациях респираторного взрыва (0,02–0,1 мМ) не влияло на конъюгативный перенос, хотя наблюдалась тенденция его увеличения. При более высоких концентрациях H_2O_2 в конъюгативной смеси эффективность переноса плазмиды в биопленках уропатогенных штаммов снижалась (рис. 4).

Известно, что дефензины обладают самостоятельной антимикробной активностью и усиливают эффективность некоторых антибактериальных препаратов в отношении представителей клинически значимых бактерий, и, кроме того, проявляют «антибиопленочную» активность. Так, минимальная подавляющая концентрация HNP-1 составила от 2 (4–32) мкг/мл,

укороченной формы HNP-1 без цистеина, HNP1ΔC18A, до 125–250 мкг/мл в отношении референтных и клинических штаммов *E. coli* [3, 12]. В плазме крови здоровых людей концентрация HNP-1 варьирует в пределах 5–11 нг/мл [13] и повышается примерно в 7 раз при обнаружении бактерий в моче (около 35–77 нг/мл) [20]. В нашем исследовании дефензин снижал частоту конъюгации, что связано с его действием на выживаемость донора плазмиды, при этом число реципиентов в биопленке при концентрации 5 нг/мл возрастало.

Как показали различные исследования, иммунный ответ хозяина варьируется в зависимости от патотипа *E. coli* и является штаммоспецифическим, поскольку экспрессия генов факторов вирулентности также различна у каждого штамма. В нашем исследовании мы также видим разнонаправленную реакцию сессильных клеток на присутствие нейтрофилов и их микробицидных факторов.

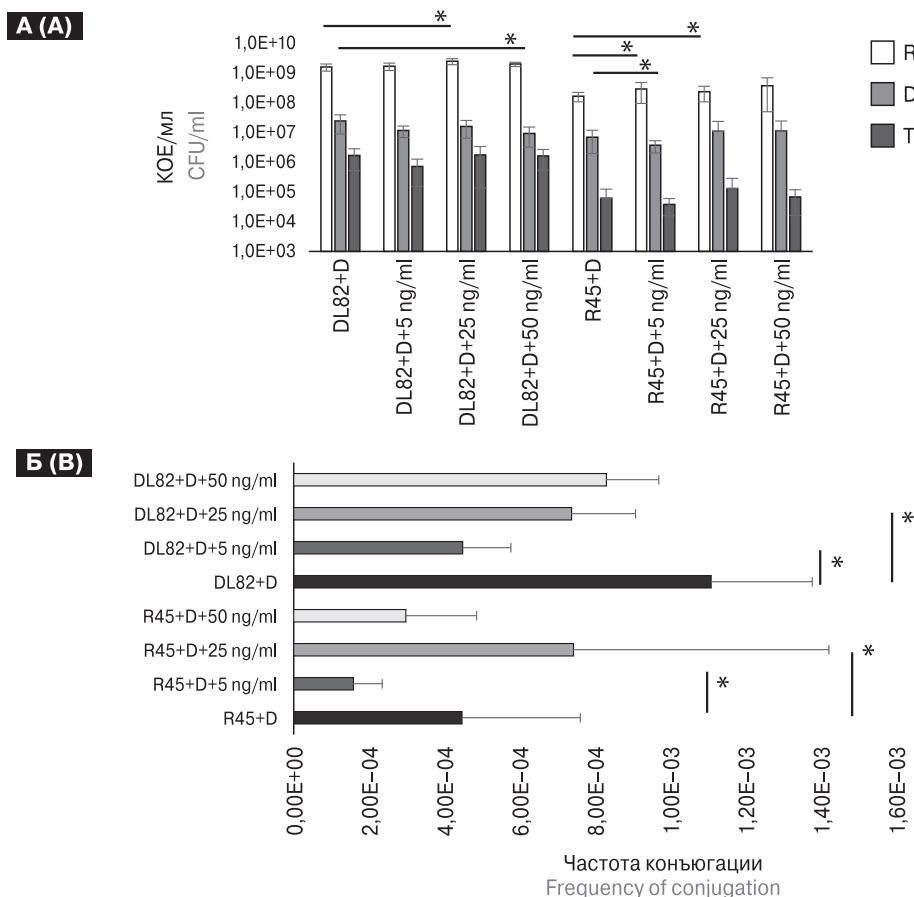


Рисунок 5. Выживаемость реципиентов *E. coli* DL82, R45 (R), донора *E. coli* N4i pOX38 (D), трансконъюгантов (Т) в конъюгативной смеси (А) и частота конъюгации (Б) в присутствии дефензина α

Figure 5. Survival of recipients *E. coli* DL82, R45 (R), donor *E. coli* N4i pOX38 (D), transconjugants (T) in the conjugative mixture (A) and frequency of conjugation (B) in the presence of defensin α .

Примечание. * — достоверные отличия между значениями при $p < 0,05$.

Note. * — significant differences between values at $p < 0.05$.

Список литературы/References

1. Данилов В.С., Зарубина А.П., Ерошников Г.Е., Соловьева Л.Н., Завильгельский Г.Б. Сенсорные биолуминесцентные системы на основе lux-оперонов разных видов бактерий // Вестник Московского университета. Серия 16. Биология. 2002. Т. 3. С. 20–24. [Danilov V.S., Zarubina A.P., Eroshnikov G.E., Solov'eva L.N., Kartashev F.V., Zavil'gel'skii G.B. Sensory bioluminescence systems based on lux-operons of various-type luminescent bacteria. *Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya 16. Biologiya = Herald of Moscow University. Series 16. Biology*, 2002, vol. 3, pp. 20–24. (In Russ.)]
2. Abdesselem M., Pétri N., Kuhner R., Mousseau F., Rouffiac V., Gacoïn T., Laplace-Builhé C., Alexandrou A., Bouzigues C.I. Real-time in vivo ROS monitoring with luminescent nanoparticles reveals skin inflammation dynamics. *Biomed Opt. Express*, 2023, vol. 14, no. 10, pp. 5392–5404. doi: 10.1364/BOE.501914
3. Bolatchiev A. Antibacterial activity of human defensins against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Peer J.*, 2020, vol. 8: e10455. doi: 10.7717/peerj.10455
4. Burmølle M., Bahl M.I., Jensen L.B., Sørensen S.J., Hansen L.H. Type 3 fimbriae, encoded by the conjugative plasmid pOLA52, enhance biofilm formation and transfer frequencies in Enterobacteriaceae strains. *Microbiology (Reading)*, 2008, vol. 154, no. pt 1, pp. 187–195. doi: 10.1099/mic.0.2007/010454-0
5. Flores-Mireles A.L., Walker J.N., Caparon M., Hultgren S.J. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2015, vol. 13, no. 5, pp. 269–284. doi: 10.1038/nrmicro3432
6. Guglielmini J., Quintais L., Garcillán-Barcia M.P., de la Cruz F., Rocha E.P. The repertoire of ICE in prokaryotes underscores the unity, diversity, and ubiquity of conjugation. *PLoS Genet.*, 2011, vol. 8: e1002222. doi: 10.1371/journal.pgen.1002222
7. Hirschfeld J. Dynamic interactions of neutrophils and biofilms. *J. Oral Microbiol.*, 2014, vol. 6: 26102. doi: 10.3402/jom.v6.26102
8. Kuznetsova M.V., Maslennikova I.L., Pospelova J.S., Žgur Bertok D., Starčić Erjavec M. Differences in recipient ability of uropathogenic *Escherichia coli* strains in relation with their pathogenic potential. *Infect. Genet. Evol.*, 2022, vol. 97: 105160. doi: 10.1016/j.meegid.2021.105160
9. Lila A.S.A., Rajab A.A.H., Abdallah M.H., Rizvi S.M.D., Moin A., Khafagy E.S., Tabrez S., Hegazy W.A.H. Biofilm Lifestyle in Recurrent Urinary Tract Infections. *Life (Basel)*, 2023, vol. 13, no. 1: 148. doi: 10.3390/life13010148
10. Maslennikova I.L., Nekrasova I.V., Kuznetsova M.V. Interaction of neutrophils and biofilm formed by uropathogenic *Escherichia coli* strains with different pathogenic potential. *Bull. Exp. Biol. Med.*, 2022, vol. 174, no. 1, pp. 51–56. doi: 10.1007/s10517-022-05647-4
11. Michaelis C., Grohmann E. Horizontal gene transfer of antibiotic resistance genes in biofilms. *Antibiotics (Basel)*, 2023, vol. 12, no. 2: 328. doi: 10.3390/antibiotics12020328
12. Moazzezy N., Asadi Karam M.R., Rafati S., Bouzari S., Oloomi M. Inhibition and eradication activity of truncated α -defensin analogs against multidrug resistant uropathogenic *Escherichia coli* biofilm. *PLoS One*, 2020, vol. 15, no. 7: e0235892. doi: 10.1371/journal.pone.0235892
13. Németh B.C., Várkonyi T., Somogyvári F., Lengyel C., Fehértemplomi K., Nyiraty S., Kempler P., Mándi Y. Relevance of α -defensins (HNP1-3) and defensin β -1 in diabetes. *World J. Gastroenterol.*, 2014, vol. 20, no. 27, pp. 9128–9137. doi: 10.3748/wjg.v20.i27.9128
14. Oliveira A., Sousa J.C., Silva A.C., Melo L.D.R., Sillankorva S. Chestnut honey and bacteriophage application to control *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli* biofilms: Evaluation in an ex vivo wound model. *Front. Microbiol.*, 2018, vol. 9: 1725. doi: 10.3389/fmicb.2018.01725
15. Olson P.D., Hunstad D.A. Subversion of Host Innate Immunity by Uropathogenic *Escherichia coli*. *Pathogens*, 2016, vol. 5, no. 1: 2. doi: 10.3390/pathogens5010002
16. O'Toole G., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.*, 2000, vol. 54, pp. 49–79. doi: 10.1146/annurev.micro.54.1.49
17. Robinson A.E., Heffernan J.R., Henderson J.P. The iron hand of uropathogenic *Escherichia coli*: the role of transition metal control in virulence. *Future Microbiol.*, 2018, vol. 13, no. 7, pp. 745–756. doi: 10.2217/fmb-2017-0295
18. Rodríguez-Beltrán J., DelaFuente J., León-Sampedro R., MacLean R.C., San Millán Á. Beyond horizontal gene transfer: the role of plasmids in bacterial evolution. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2021, vol. 9, no. 6, pp. 347–359. doi: 10.1038/s41579-020-00497-1
19. Wang Z., Humphrey C., Frilot N., Wang G., Nie Z., Moniri N.H., Daaka Y. Dynamin2- and endothelial nitric oxide synthase-regulated invasion of bladder epithelial cells by uropathogenic *Escherichia coli*. *J. Cell. Biol.*, 2011, vol. 192, no. 1, pp. 101–110. doi: 10.1083/jcb.201003027
20. Watson J.R., Hains D.S., Cohen D.M., Spencer J.D., Kline J.M., Yin H., Schwaderer A.L. Evaluation of novel urinary tract infection biomarkers in children. *Pediatr. Res.*, 2016, vol. 79, no. 6, pp. 934–939. doi: 10.1038/pr.2016.33

Авторы:

Масленникова И.Л., к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия;
Некрасова И.В., к.б.н., научный сотрудник лаборатории иммунорегуляции Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия;
Старич Эрjavec М., к.б.н., профессор кафедры микробиологии биотехнического факультета Люблянского университета, Любляна, Словения;
Кузнецова М.В., д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, г. Пермь, Россия.

Authors:

Maslennikova I.L., PhD (Biology), Senior Researcher, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation;
Nekrasova I.V., PhD (Biology), Researcher, Laboratory of Immunoregulation, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation;
Starčić Erjavec M., PhD, Professor, Department of Microbiology, Biotechnical Faculty, University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia;
Kuznetsova M.V., DSc (Medicine), Leading Researcher, Laboratory of Molecular Biotechnology, Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch Russian Academy of Sciences, Perm, Russian Federation.

Поступила в редакцию 01.04.2024
 Принята к печати 02.04.2024

Received 01.04.2024
 Accepted 02.04.2024