

Установлено, что два штамма ЕРЕС и один штамм ЕНЕС проявляли фенотип МЛУ – были одновременно устойчивы к АМП трёх и четырёх функциональных классов. Особое внимание обращает на себя энтероагрегативный штамм *E. coli* серогруппы O25, выделенный от ребёнка трёх месяцев, который оказался устойчивым к препаратам шести функциональных классов, то есть был мультирезистентным.

В ходе проведённого исследования среди изученных штаммов ЕРЕС и ЕНЕС установлено доминирование *E. coli* серогруппы O26, что указывает на эпидемиологическую и клиническую значимость эшерихий данной серогруппы. Вследствие этого при выделении *E. coli* данной серогруппы представляется необходимым определение у них факторов патогенности с помощью ПЦР-РВ или иммунохимическими методами, позволяющими напрямую детектировать шига-токсины.

Таким образом, на примере изучения коллекции штаммов диареогенных эшерихий, выделенных в период 2015–2017 гг. в г. Ярославле от детей в возрасте до 5 лет с острыми кишечными инфекциями, показана эффективность применения молекулярно-генетических методов исследований для определения патогрупп, генов вирулентности и серогрупп *E. coli*. Показано значительное биологическое разнообразие диареогенных штаммов *E. coli*, выделенных от детей с клиническими проявлениями диареи, а также необходимость широкого внедрения молекулярно-генетических методов детекции для идентификации патогрупп диареогенных эшерихий.

Наши исследования показывают также, что широко используемое в настоящее время в диагностических лабораториях серологическое типирование DEC-штаммов не позволяет определять их патотип, что в свою очередь может повлечь за собой ошибки в лечении диарей. Особенно это касается ГК, вызванного ЕНЕС, когда применение АБП не рекомендуется: их использование может лишь увеличить число случаев развития ГУС у больных с ГК и осложнить течение болезни.

Финансирование. Работа выполнена в рамках НИР № 049 Роспотребнадзора «Мониторинг и изучение свойств возбудителей пищевых и госпитальных инфекций, разработка средств их диагностики».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп.1—6, 8 см. REFERENCES)

7. Кафтырева, Л.А., Макарова, М.А., Коновалова, Т.А., Матвеева, З.Н., Характеристика энтерогеморрагической *Escherichia coli* O145:H28, выделенной от пациента с гемолитико-уремическим синдромом. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2013; 5: 100-4.

REFERENCES

1. Belanger L., Garenaux A., Harel J., Boulianne M., Nadeau E., Dozois C.M. *Escherichia coli* from animal reservoirs as potential source of human extraintestinal pathogenic *E. coli*. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2011 Jun; 62(1): 1-10.
2. Kaper J.B., Nataro J.P., Molby H.L. Pathogenic *Escherichia coli*. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004 Feb; 2(2): 123-40.
3. Hodges K., Gill R. Infectious diarrhea: Cellular and molecular mechanisms. *Gut Microbes*. 2010; 1(1): 4-21.
4. Fratamico P.M., DebRoy C., Needleman D.S. Editorial: Emerging Approaches for Typing, Detection, Characterization, and Traceback of *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*. 2016; 7: 2089.
5. Nyholm O., Halkilahti J., Wiklund G., Okeke U., Paulin L., Auvinen P., Siitonen A. Comparative Genomics and Characterization of Hybrid Shigatoxigenic and Enterotoxigenic *Escherichia coli* (STEC/ETEC) Strains. *PLoS ONE*, 2015; 10(8), e0135936.
6. French G.L. The continuing crisis in antibiotic resistance. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2010 Nov; 36 Suppl 3: S3-7.
7. Kaftyreva L.A., Makarova M.A., Konovalova T.A., Matveeva Z.N. Characteristics of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O145:H28 isolated from a patient with haemolytic-uremic syndrome. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2013; 5: 100-4. (in Russian)
8. Germinario C, Caprioli A, Giordano M, Chironna M, Gallone MS, Tafuri S, Minelli F, Maugliani A, Michelacci V, Santangelo L, Mongelli O, Montagna C, Scavia G, on behalf of all participants of the Outbreak investigation team. Community-wide outbreak of haemolytic uraemic syndrome associated with Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O26:H11 in southern Italy, summer 2013. *Euro Surveill*. 2016; 21(38):pii=30343.

Поступила 26.11.17

Принята к печати 25.12.17

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 579.871.1:579.252.551.083.1

Харсеева Г. Г., Щербатая О. С., Лабушкина А. В.

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE GRAVIS TOX*⁺ В СОСТАВЕ СМЕШАННЫХ БИОПЛЁНОК

ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, 344022, Ростов-на-Дону, Россия

*Цель – определение чувствительности к антибактериальным препаратам штаммов *C. diphtheriae gravis tox*⁺ в составе смешанных биоплёнок. Объектом исследования послужили штаммы: *Corynebacterium diphtheriae gravis tox*⁺ № 665, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (полирезистентный), *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (антибиотикочувствительный). Формировали две смешанные биоплёнки (120- и 720-часовые) штамма *Corynebacterium diphtheriae gravis tox*⁺ № 665 со штаммами *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (полирезистентный) и *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (антибиотикочувствительный). Чувствительность к антибактериальным препаратам типовой и биоплёночных культур коринебактерий определяли методом серийных разведений в жидкой питательной среде на основании МПК (мг/л). Типовая культура музейного штамма *C. diphtheriae gravis tox*⁺ № 665, моделирующая смешанные биоплёнки, обладала чувствительностью ко всем использованным антибактериальным препаратам. При исследовании антибиотикочувствительности штамма *C. diphtheriae gravis tox*⁺ № 665 в составе биоплёнки со штаммом *C. pseudodiphtheriticum*, полирезистентным к четырём антибактериальным препаратам (цефазолин, канамицин, азитромицин, цiproфлоксацин, МПК*

Для корреспонденции: Лабушкина Анна Владимировна, канд. мед. наук, доц. каф. микробиологии и вирусологии № 2; e-mail: galinagh@bk.ru

от $1,25 \pm 0,00$ до $>5 \pm 0,00$ мкг/мл) установлено снижение ($p \leq 0,05$) чувствительности 120-часовой биоплёночной культуры этого штамма к цефазолину, азитромицину, ципрофлоксацину (МПК от 0, 234 \pm 0,11 и до $>5 \pm 0,00$ мкг/мл), 720-часовой - ко всем указанным препаратам (МПК от 0,312 \pm 0,00 до $>5 \pm 0,00$ мкг/мл). При сравнении антибиотикочувствительности биоплёночных культур штамма *C. diphtheriae gravis tox+* № 665 установлено, что показатели МПК большинства антибактериальных препаратов и, в особенности тех, к которым полирезистентный, формирующий биоплёнку штамм *C. pseudodiphtheriticum* обладал устойчивостью, выше относительно биоплёночных культур дифтерийных бактерий, выделенных из биоплёнки с антибиотикочувствительным штаммом *C. pseudodiphtheriticum*.

Обнаружена тенденция к снижению антибиотикочувствительности коринебактерий при культивировании в составе смешанных биоплёнок с представителями условно-патогенных коринебактерий, обладающих полирезистентностью к антибактериальным препаратам.

Ключевые слова: *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* № 665; антибиотикочувствительность; смешанные биоплёнки.

Для цитирования: Харсеева Г.Г., Щербатая О.С., Лабушкина А.В. Антибиотикочувствительность *Corynebacterium diphtheriae Gravis tox+* в составе смешанных биоплёнок. Клиническая лабораторная диагностика. 2018; 63 (4): 253-256. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-253-256>

Kharseeva G.G., Scherbataya O.S., Labushkina A.V.

THE ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE GRAVIS TOX+* IN COMPOSITION OF MIXED BIOFILMS

The Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Rostov State Medical University" of Minzdrav of Russia, 344022, Rostov-on-Don, Russia

The purpose of study is to determine sensibility of strains of *C. diphtheriae gravis tox+* in the composition of mixed biofilms to antibacterial medications. The object of study was strains of *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* № 665, *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (poly-resistant), *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (antibiotic-resistant). Two mixed biofilms (120- and 720-hours) of strain of *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* № 665 with strains of *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (poly-resistant), *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (antibiotic-resistant) were formed. The sensibility of typical and biofilm cultures of *Corynebacteria* to antibiotic medications was established using technique of serial dilution in fluid growth medium on the basis of MPC (mg/l). The typical culture of museum strain *C. diphtheriae gravis tox+* № 665, modeling mixed biofilms had a sensitivity to all used antibacterial medications. The analysis of antibiotic resistance of strain of *C. diphtheriae gravis tox+* № 665 in content of biofilm with strain *C. pseudodiphtheriticum*, poly-resistant to four antibacterial medications (cefazolin, kanamycin, azithromycin, ciprofloxacin, IPC from 1.25 \pm 0,00 to $>5 \pm 0,00$ mkg/ml) set reduction ($p \leq 0,05$) sensitivity 120-hour biofilm cultures of this strain to cefazolin, azithromycin, ciprofloxacin (MIC of 0, 234 and up to $\pm 0,11 > 5 \pm 0,00$ ug / ml) established decreasing ($p \leq 0,05$) of sensitivity of 120-hours biofilm culture of this strain to cefazolin, azithromycin, ciprofloxacin (MIC from 0, 234 \pm 0,11 to $>5 \pm 0,00$ mkg/ml) and 720-hours culture - to all mentioned medications (MIC from 0,312 \pm 0,00 to $>5 \pm 0,00$ mkg/ml). The comparison of antibiotics resistance of biofilm cultures of strain *C. diphtheriae gravis tox+* № 665 established that indices of MIC of most of antibacterial medications and especially to those that poly-resistant and forming biofilm strain *C. pseudodiphtheriticum* was resistant, were higher as related to biofilm cultures of diphtheritic bacteria separated from biofilm with antibiotic resistant strain *C. pseudodiphtheriticum*. The trend was established related to decreasing of antibiotic sensitivity of *Corynebacteria* at cultivation in content of mixed biofilms with representatives of opportunistic *Corynebacteria* having poly-resistance to antibacterial medications.

Key words: *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* № 665; antibiotic sensitivity; mixed biofilm.

For citation: Kharseeva G.G., Scherbataya O.S., Labushkina A.V. The antibiotic sensitivity of *Corynebacterium diphtheriae gravis tox+* in composition of mixed biofilms. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika* (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2018; 63(4): 253-256. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-4-253-256>

For correspondence: Labushkina A.V., candidate of medical sciences, associate professor of the Chair of Microbiology and Virology № 2 of the Federal State Budget Educational Institution of Higher Education "The Rostov State Medical University", e-mail: galinagh@bk.ru

Information about authors:

Scherbataya O.S. <http://orcid.org/0000-0002-0507-3853>

Kharseeva G.G. <http://orcid.org/0000-0002-6226-2183>

Labushkina A.V., <http://orcid.org/0000-0002-4490-7013>

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 13.12.2017
Accepted 16.01.2018

Введение. Дифтерийная инфекция представляет собой серьёзную проблему здравоохранения, так как циркуляция токсигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae* в популяции сохраняется за счёт бактерионосительства [5]. Благодаря способности к адгезии и инвазии в макрофаги и клетки фарингеального эпителия, *C. diphtheriae* [2] обеспечивают себе возможность длительно персистировать на слизистой оболочке зева и носа бактерионосителей. В процессе персистенции происходит изменение биологических свойств возбудителя

дифтерии, что может быть связано с формированием биоплёнок [4], в составе которых многие микроорганизмы пребывают в межэпидемический период [8]. Биоплёночные культуры микроорганизмов приобретают устойчивость к факторам иммунитета и антибактериальным препаратам [6].

Развитие антибактериальной терапии в настоящее время достигло значительных успехов, но параллельно с этим существенно увеличился риск развития множественной антибиотикорезистентности микроорганиз-

мов. После окончания курса антибактериальной терапии концентрация антибиотиков во многих тканях становится ниже минимальной подавляющей и определяется как субингибирующая. Такие субингибирующие концентрации антимикробных препаратов не являются бактерицидными, но могут изменить биологические свойства (вирулентность, гидрофобность, адгезивность, инвазивность, токсинопродукция) и сформировать антибиотикоустойчивость как возбудителей инфекционного процесса, так и представителей условно-патогенной микрофлоры. Это связано с высокой адаптацией микроорганизмов к условиям окружающей среды, реализуемой, в том числе, и посредством формирования смешанных биоплёнок с представителями нормальной микрофлоры [9]. Микроорганизмы, входящие в состав биоплёнок, способны выживать при воздействии антибактериальных препаратов в таких высоких концентрациях, которые не могут быть достигнуты в организме человека при стандартных терапевтических дозах [11].

Перспективным для лечения больных дифтерией и бактерионосителей является поиск антибактериальных препаратов, препятствующих колонизации дифтерийных бактерий и их размножению, особенно, в составе биоплёнок.

Цель исследования - определение чувствительности к антибактериальным препаратам штаммов *C. diphtheriae gravis tox⁺* в составе смешанных биоплёнок.

Материал и методы. Объектом исследования служили штаммы: *Corynebacterium diphtheriae gravis tox⁺* № 665, полученный из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ФГБУ Государственный научно-медицинский институт стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича; *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (полирезистентный) и *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (антибиотикочувствительный), выделенные при профилактическом обследовании практически здоровых в бактериологической лаборатории ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России.

Формировали две смешанные биоплёнки: биоплёнка 1 (штаммы *Corynebacterium diphtheriae gravis tox⁺* № 665 и *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (полирезистентный)) и биоплёнка 2 (*Corynebacterium diphtheriae gravis tox⁺* № 665 и *Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (антибиотикочувствительный)). Для этого штаммы коринебактерий культивировали на кровяном агаре, затем отбирали колонии и готовили из них микробную взвесь густотой 10^9 по стандарту Мак Фарланда. В равных объёмах (по 0,1 мл) культуры, формирующие биоплёнку 1 и биоплёнку 2, вносили в пробирки с 3 мл сердечно-мозгового бульона с добавлением 20% сыворотки крупного рогатого скота. Через 120 и 720 часов культивирования при $+37^{\circ}$ С проверяли жизнеспособность выросших биоплёночных культур всех исследованных штаммов коринебактерий [1].

Чувствительность к антибактериальным препаратам (бензилпенициллин, цефазолин, цефотаксим, гентамицин, канамицин, линкомицин, азитромицин, ципрофлоксацин, рифампицин, имипенем, ванкомицин) всех исследованных планктонных и биоплёночных (120- и 720-часовых) культур коринебактерий определяли методом серийных разведений (микрометодом) в жидкой питательной среде [3] по величине минимальной подавляющей концентрации (МПК).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием статистических программ Statistica 6.0 для WindowsXp. Достоверность полученных данных оценивали при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты. Типовая культура музейного штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665, моделирующая смешанную биоплёнку, обладала чувствительностью ко всем указанным антибактериальным препаратам, при этом значения МПК колебались в пределах от $0,025 \pm 0,01$ до $0,156 \pm 0,14$ мкг/мл.

При исследовании антибиотикочувствительности штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665 в составе биоплёнки 1 (со штаммом *C. pseudodiphtheriticum*, полирезистентным к четырём антибактериальным препаратам (цефазолин, канамицин, азитромицин, ципрофлоксацин, МПК в пределах от $1,25 \pm 0,00$ до $>5 \pm 0,00$ мкг/мл) обнаружены изменения. Установлено снижение ($p \leq 0,05$) чувствительности 120-часовой биоплёночной культуры этого штамма к цефазолину, азитромицину, ципрофлоксацину (МПК в пределах от $0,234 \pm 0,11$ и до $>5 \pm 0,00$ мкг/мл), 720-часовой - ко всем указанным препаратам (МПК от $0,312 \pm 0,00$ до $>5 \pm 0,00$ мкг/мл). При исследовании других антибактериальных препаратов, к которым формировавший биоплёнку полирезистентный штамм *C. pseudodiphtheriticum* обладал чувствительностью [7], выявили снижение ($p \leq 0,05$) чувствительности 120- и 720-часовых биоплёночных культур исследованного токсигенного штамма коринебактерий к цефотаксиму и ванкомицину (МПК от $0,132 \pm 0,00$ до $>5 \pm 0,00$ мкг/мл).

При исследовании антибиотикочувствительности штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665 в составе биоплёнки 2 (со штаммом *C. pseudodiphtheriticum*, чувствительным ко всем антибактериальным препаратам), как и при исследовании биоплёнки 1, выявлены изменения. МПК цефазолина, канамицина, ципрофлоксацина в отношении 120-часовой биоплёночной культуры токсигенного штамма коринебактерий превышали ($p \leq 0,05$) аналогичный показатель типовой культуры, как и при исследовании биоплёнки 1. МПК азитромицина при исследовании типовой и 120-часовой биоплёночной культуры этого штамма не отличались. Показатели МПК цефазолина, канамицина, азитромицина, ципрофлоксацина были выше ($p \leq 0,05$) относительно 720-часовой биоплёночной культуры штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665, чем типовой культуры этого же штамма. Аналогично показателям МПК биоплёночных культур в составе биоплёнки 1, значения МПК 720-часовой культуры штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665 биоплёнки 2 увеличивались как к цефотаксиму, так и ванкомицину, но в меньшей степени. Определение антибиотикочувствительности токсигенного штамма коринебактерий к другим антибактериальным препаратам, взятым в исследование, выявило результаты, аналогичные полученным при изучении биоплёнки 1.

Обсуждение. При сравнении антибиотикочувствительности биоплёночных культур штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665 установлено, что показатели МПК большинства антибактериальных препаратов и, в особенности тех, к которым полирезистентный, формирующий биоплёнку 1 штамм *C. pseudodiphtheriticum* обладал устойчивостью, выше относительно биоплёночных культур дифтерийных бактерий, выделенных из биоплёнки 2.

В составе биоплёнок антибиотикочувствительность микроорганизмов существенно снижается [3], что соз-

дает определённые сложности при назначении антибактериальной терапии. Определение чувствительности к антибиотикам возбудителя дифтерии, находящегося в организме при бактерионосительстве в микробном сообществе с представителями нормальной микрофлоры, является актуальным в современных условиях. Учитывая, что представители нормальной микрофлоры могут обладать устойчивостью к антибактериальным препаратам, можно предположить возможную передачу этого свойства токсигенным коринебактериям, попадающим в организм [10]. По нашим данным, антибиотикочувствительность штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665, выделенного из биоплёнки 1, сформированной с полирезистентным штаммом *C. pseudodiphtheriticum*, ниже, чем из биоплёнки 2 с антибиотикочувствительным штаммом *C. pseudodiphtheriticum*. Это может быть связано с передачей генетического материала, кодирующего устойчивость к антибактериальным препаратам (цефазолину, канамицину, азтромамицину, ципрофлоксацину).

Наблюдалось снижение антибиотикочувствительности биоплёночных культур коринебактерий и к антибиотикам, к которым полирезистентный штамм *C. pseudodiphtheriticum* обладал чувствительностью (цефотаксим, ванкомицин). Аналогичные данные получены и при исследовании коринебактерий, выделенных из биоплёнки 2 (с антибиотикочувствительным штаммом *C. pseudodiphtheriticum*). Данный факт может быть связан со свойствами межмикробного матрикса (плотность, толщина, возраст, микробное видообразование, метаболизм), защищающего коринебактерии от воздействия антибактериальных препаратов. При этом механизм действия указанных препаратов (цефотаксим, ванкомицин) обусловлен подавлением синтеза клеточной стенки, а формирующийся межмикробный матрикс биоплёнки экранирует пептидогликан, что ведёт к угнетению доставки антибактериальных препаратов к коринебактериям.

Заключение. Чувствительность штамма *C. diphtheriae gravis tox⁺* № 665 в составе смешанной биоплёнки 1 (с полирезистентным штаммом *C. pseudodiphtheriticum*) снижалась к цефазолину, азтромамицину, ципрофлоксацину, канамицину, к которым штамм *C. pseudodiphtheriticum* резистентен, в большей степени, чем аналогичный показатель этого же штамма возбудителя дифтерии в составе смешанной биоплёнки 2 (с антибиотикочувствительным штаммом *C. pseudodiphtheriticum*). Обнаружена тенденция к снижению антибиотикочувствительности коринебактерий при культивировании в составе смешанных биоплёнок с представителями условно-патогенных коринебактерий, обладающих полирезистентностью к антибактериальным препаратам.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Окулич В.К. Микробиологические и иммунологические аспекты инфекций, вызванных условно-патогенными бактериями, образующими биоплёнку. *Вестник Витебского государственного медицинского университета*. 2016; 15 (5): 52-63.

2. Фролова Я. Н., Харсеева Г. Г., Миронов А. Ю. Чувствительность к антибиотикам биоплёночных культур токсигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2014; 6: 51-3.
3. Харсеева Г. Г., Миронов А. Ю., Фролова Я. Н., Лабушкина А. В. Способность к формированию биопленки возбудителем дифтерии. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2013; 2: 36-8.
4. Харсеева Г. Г., Алутина Э. Л., Гасретова Т. Д., Дятлов И. А., Лабушкина А. В., Миронов А. Ю. и др. *ДИФТЕРИЯ: микробиологические и иммунологические аспекты*. М., Практическая медицина; 2014.
5. Bishai W. R., Murray J. R. *Diphtheria and other infections caused by corynebacteria and related species*. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th edn. New York: McGraw-Hill; 2011.
6. Hall-Stoodley L., Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol*. 2009; 11 (7): 1034-43.
7. Tianyan Song., Marylise Duperthuy., Sun Nyunt Wai. Sub-Optimal Treatment of Bacterial Biofilms. *Antibiotics*. 2016; 5: 23.
8. Stewart P.S. Antimicrobial tolerance in biofilms. *Microbiol. Spectr*. 2015 June ; 3(3): 21.
9. Watnick P., Kolter R. Biofilm, city of microbes. *J. of Bacteriol*. 2000; 182 (10):2675-9.
10. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России; 2004.
11. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). 2015; 4: 291-6.

REFERENCES

1. Okulich V.K. Microbiological and immunological aspects of infections caused by opportunistic bacteria forming biofilm. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo meditsinskogo Universiteta*. 2016; 15 (5): 52-63. (in Russian)
2. Frolova Ya.N., Kharseeva G.G., Mironov A.Yu. Sensitivity to antibiotics of biofilm cultures of toxigenic strains of *Corynebacterium diphtheriae*. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2014; 6: 51-3. (in Russian)
3. Kharseeva G.G., Mironov A.Yu., Frolova Ya.N., Labushkina A.V. Ability to form a biofilm pathogen diphtheria. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013; 2: 36-8. (in Russian)
4. Kharseeva G.G., Alutina E.L., Gasretova T.D., Dyatlov I.A., Labushkina A.V., Mironov A.Yu. et al. *Diphtheria: microbiological and immunological aspects [Difteriya: mikrobiologicheskie i immunologicheskie aspekty]*. Moscow: *Practicheskaya meditsina*; 2014. (in Russian)
5. Bishai W. R., Murray. J. R. *Diphtheria and other infections caused by corynebacteria and related species*. In: *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 17th edn. New York: McGraw-Hill; 2011.
6. Hall-Stoodley L., Stoodley P. Evolving concepts in biofilm infections. *Cell Microbiol*. 2009; 11 (7): 1034-43.
7. Tianyan Song, Marylise Duperthuy, Sun Nyunt Wai. Sub-Optimal Treatment of Bacterial Biofilms. *Antibiotics*. 2016; 5: 23.
8. Stewart P.S. Antimicrobial tolerance in biofilms. *Microbiol. Spectr*. 2015 June ; 3(3): 21.
9. Watnick P., Kolter R. Biofilm, city of microbes. *J. of Bacteriol*. 2000; 182 (10):2675-9.
10. *Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs: Methodological guidelines [Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam]*. Moscow: Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Supervision of the Russian Ministry of Health; 2004. (in Russian)
11. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). 2015; 4: 291-6.

Поступила 13.12.17

Принята к печати 16.01.18