

Детушева Е. В.¹, Ершова О. Н.², Фурсова Н. К.¹

ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ ПЛАНКТОННЫХ КУЛЬТУР И БИОПЛЁНОК ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ К КОММЕРЧЕСКИМ ПРЕПАРАТАМ ДЕЗИНФЕКТАНТОВ И АНТИСЕПТИКОВ

¹ФБУН «ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, 142279, Оболенск, Московская обл., Россия;

²ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр нейрохирургии имени академика Н.Н. Бурденко» Минздрава РФ, 125047, Москва, Россия

Изучена антибактериальная активность in vitro 11 коммерческих препаратов дезинфектантов и 8 антисептиков против 10 штаммов бактерий Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, Enterobacter cloacae, Providencia stuartii, полученных из международных коллекций и выделенных от пациентов нейрореанимации г. Москвы в 2018-2019 годах. Чувствительность планктонных культур к препаратам определяли методом серийных разведений в бульоне и спот-методом на плотных питательных средах, чувствительность биоплёнок – методом аппликаторов. Выявлена общая закономерность: уровень чувствительности к тестируемым дезсредствам у клинических штаммов ниже, чем у референс-штаммов. Дезинфектанты «Микробак-Форте», «SAT-22», «Необак-Окси» эффективны против бактерий всех тест-штаммов, как в планктонном состоянии, так и в виде биоплёнок. Препараты дезинфектантов «Биодез-Оптима», «Биодез-Экстра ДВУ», «Новодез-Актив», «Триосепт-Окси», «Тристел Фьюз для поверхностей», «Эффект-Форте плюс», «Лактик-Окси» не обладают достаточной эффективностью в концентрациях, используемых в отделении нейрореанимации, поэтому предлагается использовать эти препараты в более высоких концентрациях. Выявлено, что дезсредство «Биодез-Экстра ДВУ» способно подавлять рост биоплёнок K. pneumoniae. Для дезсредства «Тристел Фьюз для поверхностей» выявлена способность подавлять рост биоплёнок K. pneumoniae, A. baumannii, P. aeruginosa. Бактерии всех использованных тест-штаммов в планктонном состоянии чувствительны ко всем тестируемым препаратам антисептиков. Биоплёнки клинических штаммов P. aeruginosa и P. stuartii обладают устойчивостью к антисептикам «Октенидол», «Октенисепт», «Мирамистин», «Гексорал» Проведённые исследования указывают на необходимость анализа чувствительности к антибактериальным препаратам у госпитальных патогенов, включая моделирование бактериальных биоплёнок, что является актуальным и важным научным направлением, необходимым для совершенствования контроля ИСМП в РФ.

Ключевые слова: дезинфектанты; антисептики; антибактериальная активность; резистентность; планктонные бактерии; биоплёнки.

Для цитирования: Детушева Е.В., Ершова О.Н., Фурсова Н.К. Исследование антибактериальной активности дезсредств и антисептиков различных классов против бактериальных возбудителей внутрибольничных инфекций. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2021; 66 (7): 438-447. DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-7-438-447>

Detusheva E.V.¹, Ershova O.N.², Fursova N.K.¹

THE SENSITIVITY OF PLANKTONIC CULTURES AND BIOFILMS OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA TO COMMERCIAL DISINFECTANT AND ANTISEPTIC PREPARATIONS

¹State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow region, Russia;

²Burdenko Neurosurgery Institute, Moscow, Russia

The in vitro antibacterial activity of 11 commercial disinfectant preparations and 8 antiseptics against 10 strains of the bacteria Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, Enterobacter cloacae and Providencia stuartii obtained from international collections and isolated from neuroresuscitation patients in Moscow in 2018 was studied. The sensitivity of planktonic cultures to the preparations was determined by the method of serial dilutions in broth and the spot method on solid nutrient media, the sensitivity of biofilms by the applicator method. A general pattern was revealed: the level of sensitivity to tested disinfectants in clinical strains was lower than in reference strains. It was found that the disinfectants «Mikrobak-Forte», «SAT-22», «Neobak-Oksi» at the concentrations recommended by the manufacturers were effective against bacteria of all test strains, both in the plankton state and in the form of biofilms. On the contrary, the disinfectant preparations «Biodez-Optima», «Biodez-Extra DVU», «Novodez-Aktiv», «Triosept-Oksi», «Tristel Fusion for Surfaces», «Effect-Forte Plus», «Lactic-Oxy» did not have sufficient effectiveness in the concentrations recommended by the manufacturers, therefore it is proposed to use these drugs in higher concentrations. It was found that the disinfectant «Biodez-Extra DVU» is able to inhibit the growth of biofilms of bacteria of the species K. pneumoniae. The ability to suppress the growth of bacterial biofilms of K. pneumoniae, A. baumannii, P. aeruginosa was revealed for the «Tristel Fusion for surfaces disinfectant».

The bacteria of all used test strains in the planktonic state were sensitive to all tested antiseptic preparations. However, the biofilms of the clinical strains of P. aeruginosa and P. stuartii, possessed resistance to the antiseptics «Octenidol», «Octenisept», «Miramistin», «Hexoral». Our studies indicate the need for sensitivity analysis of antibacterial drugs in representatives of hospital pathogens, including the modeling of bacterial biofilms, which is a very relevant and important scientific direction, necessary to improve the control of nosocomial infections in the Russian Federation.

Key words: disinfectants; antiseptics; antibacterial activity; resistance; planktonic bacteria; biofilms.

For citation: Detusheva E.V., Ershova O.N., Fursova N.K. The study of the antibacterial activity of disinfectants and antiseptics of various classes against bacterial pathogens of nosocomial infections. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2021; 66 (7): 438-447 (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-7-438-447>

For correspondence: Detusheva Elena Vladimirovna, Ph.D. biol. Sci., Researcher, Department of Molecular Microbiology, Laboratory of Antimicrobial Preparations; e-mail: detushevaev@obolensk.org

Information about authors:

Detysheva E.V., <http://orcid.org/0000-0003-3478-6534>;

Fursova N.K., <http://orcid.org/0000-0001-6053-2621>;

Ershova O.N., <http://orcid.org/0000-0003-3175-2910>.

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

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 15.07.2020
Accepted 01.09.2020

Введение. Согласно многочисленным исследованиям последних лет, одним из источников внутрибольничных инфекций и фактором персистенции их возбудителей в госпитальных экосистемах, от воздуха и воды до внутренней поверхности катетеров и систем организма, являются биоплёнки [1-3]. В составе биоплёнок бактерии проявляют специфические свойства, включая повышенную устойчивость к обработке дезсредствами и антисептиками, которые широко используются в медицинских организациях в качестве средств неспецифической профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) [4, 5]. Отмечен факт выживаемости микроорганизмов после длительного воздействия биоцидными препаратами на медицинских устройствах, в полостях организма человека, на пищевых продуктах, бытовых объектах [6-10].

Подразделение биоцидов на дезинфектанты (препараты для обработки абиотических поверхностей) и антисептики (средства для обработки биотических поверхностей) весьма условно, так как в некоторых случаях одно и то же средство, в зависимости от концентрации, может быть использовано и как дезинфектант, и как антисептик. Хлоргексидин используется в качестве дезинфектанта для общей дезинфекции помещений, санитарного оборудования в концентрациях 1-2%, в качестве антисептика – в концентрации 0,05-0,5% [11]. Антибактериальное действие дезинфектантов и антисептиков основано на изменении параметров окружающей среды (ионное равновесие, осмотическое давление). При биостатическом действии препарата нарушаются обменные процессы в клетке, что ведёт к замедлению размножения микроорганизмов. При удалении препарата из окружающей среды физиологическая активность микроорганизмов восстанавливается. Биоцидное действие дезсредств основано на необратимом нарушении структур и функций клеток микроорганизмов, зачастую связанному со свертыванием белков цитоплазмы, что ведёт их к гибели [12, 13].

При всем многообразии используемых на практике дезинфицирующих средств, спектр химических соединений, используемых для их получения, ограничен: галогены, спирты, перекиси, фенолы, четвертичные аммониевые соединения (ЧАС), альдегиды, третичные амины, кислоты [14].

Одним из факторов, приводящих к устойчивости бактерий к химическим дезинфицирующим средствам, является переоценка существующих методов лабораторного определения чувствительности бактерий к антимикробным препаратам (АМП). Исследования, выполненные на свободно планктонных культурах, дают результаты, которые не всегда обеспечивают надёжное использование биоцидных препаратов на практике. Важным моментом является необходимость мониторинга чувствительности бактериальных патогенов, циркулирующих в госпитальной среде, поскольку данная среда является резервуаром для образования резистентных форм бактерий не только к антибиотикам, но и к антисептикам и дезинфектантам [15].

Цель работы – оценка антибактериальной активности дезсредств и антисептиков различных классов против бактериальных возбудителей ИСМП.

Материал и методы. Препараты дезсредств и антисептиков. Использованы 11 препаратов дезсредств и 8 препаратов антисептиков, относящихся к различным функциональным классам (табл. 1, 2).

Штаммы бактерий. В работе использованы референс-штаммы *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Acinetobacter baumannii* ATCC 15308, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, полученные из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов «ГКПМ-Оболensk», клинические штаммы *K. pneumoniae* В-2523/18, *K. pneumoniae* В-14/19, *K. pneumoniae* В-101/19, *A. baumannii* В-2996/18, *P. aeruginosa* В-2099/18, *Providencia stuartii* В-2426/18, выделенные от пациентов отделения нейрореанимации в 2018-2019 г., охарактеризованные по фенотипам антибиотикорезистентности и наличию генов β -лактамаз (bla_{SHV} , bla_{TEM} , bla_{CTX-M} , bla_{OXA-48} , bla_{VIM} и bla_{NDM}) и интегронов класса 1 (*int1*) [16,17] (табл. 3).

Культивирование и видовая идентификация бактерий. Для культивирования бактерий использован агар и бульон ГРМ № 1 (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболensk, Россия), агар Мюллера-Хинтон (Himedia, Mumbai, Индия), хранение – в 20%-ном глицерине при температуре минус 70 С. Видовую идентификацию бактерий проводили на масс-спектрометре MALDI-TOF Biotyper (Bruker, Германия).

Определение способности бактерий к образованию биоплёнок. Эффективность образования бактери-

Препараты дезинфекционных средств, использованные в работе

Наименование препарата, производитель	Группа по ДВ	Состав и концентрации ДВ	Концентрации*, рекомендованные производителем, %	Концентрации*, используемые в исследовании, %
Биодез-Оптима (ООО Биодез, Россия)	ЧАС	Алкилдиметилбензиламмоний хлорид-25%	1,0 / 0,25	0,05 / 0,01
Дезин (ООО Дезиндустрия, Россия)	Неполимерный гуанидин	Хлоргексидина биглюконат-20%	2,0 / 0,5	2,0 / 0,4
Биодез-Экстра ДВУ (ООО Биодез, Россия)	ЧАС+альдегид	Смесь ЧАС-24 %, глутаровый альдегид-7%, глиоксаль-6%	2,0 / 1,0	0,05 / 0,03
Новодез-Актив (АО НПО Новодез, Россия)	Кислородсодержащие	Смесь ЧАС-33%, N,N-бис(3-аминопропил)додециламин-5%	0,5 / 0,2	0,5 / 0,2
Триосепт-Окси (ООО НПО СпецСинтез, Россия)	ЧАС+кислородосодержащее	Перекись водорода-25%, дидецилдиметиламмоний хлорид-5%, вспомогательный компонент – фосфорная кислота	2,5 / 0,08	0,15 / 0,05
САТ-22 (ООО Сателлит, Россия)	ЧАС+амин+гуанидин	Смесь ЧАС-15%, N,N-бис(3-аминопропил)додециламин) – 4%, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид -5%	0,7 / 0,17	1,5 / 0,36
Микробак Форте (BODE Chemie GmbH, Германия)	ЧАС+амин	Бензалконий хлорид – 20,0%, додецилбиспропилентриамин – 5,0%	2,5 / 0,63	2,5 / 0,63
Тристел-Фьюз (Tristel Solutions Limited, Великобритания)	Окислители	База: лимонная кислота – 5%, активатор: хлорит натрия – 0,5%. При смешении компонентов образуется диоксид хлора	2,0 / 2,0	2,0 / 2,0
Эффект-Форте плюс (ООО Биодез, Россия)	ЧАС+амин+гуанидин	Клатрат дидецилдиметиламмония бромид – 20% (соответствует содержанию ЧАС в концентрате 6%), алкилдиметилбензиламмоний хлорид – 5%, полигексаметиленбигуанидин – 3%, N,N-бис(3-аминопропил) додециламин – 6%	4,0 / 0,8	0,05 / 0,01
Лактик-Окси (АО НПО Новодез, Россия)	ЧАС+кислородосодержащее	Комплекс ЧАС (алкилдиметилбензиламмоний хлорид и дидецилдиметиламмоний хлорид – 30,0 %), перекись водорода – 5,5%	8,0 / 2,8	3,0 / 1,05
Необак-Окси (АО НПО Новодез, Россия)	ЧАС+гуанидин	Комплекс ЧАС (алкилдиметилбензиламмоний хлорид и алкилдиметилэтилбензиламмоний хлорид 7,5%), полигексаметиленгуанидин гидрохлорид – 2%, перекись водорода – 12%	7,0 / 1,54	5,0 / 1,1

Примечание. ЧАС – четвертично-аммониевые соединения, ДВ – действующее вещество; * - концентрации, рекомендованные производителем для бактерий, микобактерий, грибов, спор по препарату / действующему веществу.

альных биоплёнок определяли при помощи метода, основанного на способности красителя кристаллического фиолетового связываться с клетками и матриксом биоплёнок [18]. Для получения биоплёнок использованы 96-луночные плоскодонные культуральные планшеты, в которые засеивали по 200 мкл суточной бактериальной культуры в концентрации 10^6 КОЕ/мл, культивировали 24 ч при температуре 37° С. Из лунок планшета осторожно отбирали среду с планктонными клетками. Для удаления оставшихся планктонных

клеток лунки с биоплёнками промывали в течение 2-3 мин стерильным буфером PBS (NaCl – 8 г, KCl – 0,2 г, Na_2HPO_4 – 1,44 г, KH_2PO_4 – 0,24 г. на 1 л, pH=7.4) в том же объёме, после чего буфер полностью удаляли пипетированием. В каждую лунку вносили по 200 мкл отфильтрованного 0,1% раствора генциана фиолетового, инкубировали биоплёнки с красителем в течение 10-15 мин при комнатной температуре, после чего краситель пипетированием полностью удаляли из лунки. Не связавшийся краситель тщательно

Препараты антисептиков, использованные в работе

Антисептики		
Бонадерм-АФ (АО НПО «Новодез», Россия)	ЧАС+производные фенола	2-феноксиэтанол-2 %, алкилдиметилбензиламмоний хлорид-0,1%
Мелисептол-Рapid (Б. Браун Медикал АГ», Швейцария)	Пропиловый спирт+ЧАС	Пропиловый спирт-50 %, дидецилдиметиламмоний хлорид-0,075%
Октенидол (Шюльке и Майр ГмБХ, Германия)	КПАВ	Октенидина дигидрохлорид
Октенисепт (Шюльке и Майр ГмБХ, Германия)	КПАВ	Октенидина дигидрохлорид 0,1 г феноксиэтанол 2 г на 100 мл
Триосепт-Экспресс (ООО «НПО СпецСинтез», Россия)	Смесь пропиловых спиртов+хлоргексидин+ЧАС+амин	Изопропанол-30%, н-пропанол-31%, дидецилдиметиламмоний хлорид-0,1%, N,N-бис(3-аминопропил)додециламин-0,05 %, хлоргексидина биглюконат-0,1%
Бацилол-плюс («Боде Хеми ГмБХ и Ко», Германия)	Смесь пропиловых спиртов+альдегид	Пропанол-40,0 %, изопропанол-20,0 %, глутаровый альдегид-0,1%
Мирамистин (ООО «ИНФАМЕД К», Россия)	ЧАС	Бензилдиметил 3-(миристоиламино)пропиламмоний хлорид моногидрат 0,01%
Гексорал (Johnson&Johnson, Франция)	На основе гектетидина	Гексетидин 0,1% (1,3-бис(2-Этилгексил)гексагидро-5-метил-5-пиримидинамин)

Примечание. ЧАС – четвертично-аммониевые соединения, КПАВ – катионные поверхностно-активные вещества.

Таблица 3

Фенотипы и генотипы антибиотикорезистентности клинических штаммов бактерий

Штамм	Дата выделения	Источник выделения	Устойчивость к АМП	Гены антибиотико-резистентности
<i>K. pneumoniae</i> B-2523/18	30.08.2018	Кровь	AMP	<i>blaSHV</i>
<i>K. pneumoniae</i> B-14/19	09.01.2019	Ликвор	AMP, AMS, CEF, CEX, CAZ, CPS, FEP, IMI, ERM, TET, TGC, CIP, CM, GEN, TOB, NIT	<i>bla_{SHV}</i> , <i>bla_{TEM}</i> , <i>bla_{CTX-M}</i> , <i>bla_{OXA-48}</i>
<i>K. pneumoniae</i> B-101/19	21.01.2019	Трахея	AMP, AMS, CEF, CEX, CPS, IMI, ERM, TET, TGC, CIP, CM, GEN, TOB, AMI, BIS, NIT	<i>bla_{SHV}</i> , <i>bla_{OXA-48}</i> , <i>int1</i>
<i>A. baumannii</i> B-2996/18	01.10.2018	Ликвор	AMS, CEF, CEX, CPS, FEP, IMI, CIP, GEN, TOB, BIS	<i>int1</i>
<i>P. aeruginosa</i> B-2099/18	15.10.2018	Трахея	CEF, CTX, CTA, CAZ, CPS, FEP, MER, CIP, GEN, AMI, NIT	<i>bla_{VIM}</i> , <i>int1</i>
<i>P. stuartii</i> B-2426/18	B-2426/18	Центральный венозный катетер	CEF, CEX, CTA, CAZ, CPS, ERM, IMI, TET, TGC, CIP, CM, GEN, TOB, NIT	<i>bla_{NDM}</i> , <i>int1</i>

Примечание. AMP – ампициллин, AMS – ампициллин-сульбактам, CEF – цефоперазон, CEX – цефокситин, CTX – цефотаксим, CAZ – цефтазидим, CTA – цефтриаксон, CPS – цефоперазон-сульбактам, FEP – цефепим, IMI – имипенем, ERM – эртапенем, TET – тетрациклин, TGC – тигециклин, CIP – ципрофлоксацин, CM – хлорамфеникол, GEN – гентамицин, TOB – тобрамицин, AMI – амикацин, BIS – бисептол, NIT – нитрофурантоин.

смывали PBS буфером, планшеты переворачивали на фильтровальную бумагу и высушивали. После полного высыхания поверхности в лунки добавляли 200 мкл смеси этанола-изопропанола (1:1), смывали краситель с поверхности лунок, отбирали и помещали в чистые плоскодонные планшеты. Оптическую плотность полученного раствора измеряли при длине волны 590 нм на приборе xMark™ Microplate Absorbance Spectrophotometer (Bio-Rad, США). Результаты измерений интерпретировали, сравнивая показатели OD₅₉₀ образцов с таковым негативного контроля (чистого растворителя без добавления красителя).

Отсутствие биоплёнки фиксировали при значениях (OD₅₉₀ образца ≤ OD₅₉₀ контроля), слабую степень продукции биоплёнки – при (OD₅₉₀ контроля < OD₅₉₀ образца ≤ 2 OD₅₉₀ контроля), среднюю степень продукции биоплёнки – при (2 OD₅₉₀ контроля < OD₅₉₀ образца ≤ 4 OD₅₉₀ контроля), высокую степень продукции биоплёнки – при (4 OD₅₉₀ контроля < OD₅₉₀ образца), в соответствии с рекомендациями L.V. Rodrigues и соавт. [19]. Все эксперименты проводили в трёх повторностях.

Чувствительность к АМП. Минимальные подавляющие концентрации 26 АМП 8 функциональных

групп: пенициллинов, цефалоспоринов, карбапенемов, аминогликозидов, фторхинолонов, сульфаниламидов, тетрациклинов, полимиксинов определяли на приборе Vitek 2 Compact с использованием карт AST N-101 и AST N-102 (BioMérieux, Франция). Интерпретацию результатов осуществляли в соответствии с рекомендациями EUCAST Version 9.0 (http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Breakpoint_tables). В качестве контрольных использовали штаммы *E. coli* ATCC 25922 и ATCC 35218.

Определение чувствительности планктонных клеток бактерий к препаратам дезсредств. Минимальные бактерицидные концентрации (МБК) дезсредств определяли методом серийных разведений в бульоне (МУК 4.2.1890-04), методом микрокапель, нанося 10 мкл бактериальной суспензии исследуемой культуры в концентрации 10^7 - 10^8 КОЕ/мл на поверхность питательного агара, содержащего серийные разведения дезсредства. За МБК препарата принимали его минимальную концентрацию, при которой отсутствовал рост тест-культуры [20]. В исследовании не оценивали вклад отдельных компонентов и их возможное синергидное действие.

Определение чувствительности бактериальных биоплёнок к препаратам дезсредств. Чувствительности бактериальных биоплёнок к тестируемым препаратам определяли методом аппликаторов [20]: поверхность питательного агара, не содержащего АМП, засеивали 0,1 мл суспензии тест-культуры в концентрации 10^9 КОЕ/мл. Посевы инкубировали при температуре 37 °С в течение 24 ч, после чего на поверхность бактериального газона накладывали при помощи стерильного пинцета стерильные целлюлозные аппликаторы (7×7 мм) на 2-3 мин. Аппликаторы с отпечатками культуры переносили стерильным пинцетом на поверхность агара в чашки Петри с питательной средой, содержащей серийные разведения препарата. Чашки инкубировали при температуре 37 °С в течение 48 ч, учитывали результаты. За МБК принимали

минимальную концентрацию препарата, при которой отсутствовал рост культуры на аппликаторе и вокруг него.

Результаты. Оценка интенсивности биоплёнокообразования тест-штаммами микроорганизмов. Анализ величин относительных показателей плотности биоплёнок, сформированных бактериями использованных штаммов в лунках культуральных планшетов, позволил подразделить штаммы на две категории: штаммы с высокой степенью образования биоплёнок ($n=7$) и штаммы со средней степенью образования биоплёнок ($n=3$). Доля штаммов с высокой степенью образования биоплёнок выше среди референс-штаммов (4 из 5 штаммов), чем среди коллекционных штаммов (2 из 4 штаммов) (табл. 4).

Антибактериальная активность биоцидов против штаммов бактерий возбудителей внутрибольничных инфекций. Использован разработанный нами ранее методический подход, позволяющий проводить сравнительный анализ чувствительности микроорганизмов к АМП, в том числе к антисептикам и дезинфектантам, в планктонном состоянии и для биоплёнок. Чувствительность бактерий к биоцидам изучена на препаратах, относящихся к разным функциональным классам (см. табл. 1, 2).

Показано, что планктонные клетки исследуемых штаммов бактерий более чувствительны к исследуемым дезсредствам, чем бактериальные клетки тех же штаммов в составе биоплёнки, что, по-видимому, связано с влиянием факторов, характерных для бактериальных биоплёнок – наличием внеклеточного матрикса [21], особенностями субстрата на котором формируется биоплёнка [22] продукцией генов резистентности, характерных для биоплёнок [23,24]. Исключение составил препарат «Тристал-Фьюз» с действующим веществом (ДВ) – диоксид хлора, образующимся при смешивании компонентов перед использованием, для которого значения МБК для планктонных клеток совпали с МБК для биоплёнок штаммов *K. pneumoniae*

Таблица 4

Степень биоплёнокообразования бактериями тест-штаммов

Штаммы	OD ₅₉₀	Степень образования биоплёнки
Референс-штаммы		
<i>K. pneumoniae</i> ATCC700603	0,255±0,008	Средняя
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	0,383±0,013	Высокая
<i>A. baumannii</i> ATCC 15308	0,391±0,005	Высокая
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	0,301±0,008	Средняя
Клинические штаммы		
<i>K. pneumoniae</i> B-2523/18	0,399±0,011	Высокая
<i>K. pneumoniae</i> B-101/19	0,303±0,022	Высокая
<i>K. pneumoniae</i> B-14/19	0,255±0,009	Средняя
<i>A. baumannii</i> B-2996/18	0,415±0,012	Высокая
<i>P. aeruginosa</i> B-2099/18	0,452±0,018	Высокая
<i>P. stuartii</i> B-2426/18	0,368±0,012	Высокая

Чувствительность к дезинфектантам планктонных клеток и биоплёнок тест-штаммов бактерий

Штамм		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Референс-штаммы												
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	П	0,02	0,03	0,03	0,06	0,02	0,006	0,02	2	0,02	0,01	0,08
	Б	0,1	0,13	0,06	0,25	1	0,1	0,1	2	0,1	0,05	0,6
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	П	0,06	0,005	0,03	0,13	0,02	0,02	0,04	2	0,06	0,02	0,08
	Б	0,5	0,06	0,13	1	1	0,2	0,2	2	0,25	0,4	0,6
<i>A. baumannii</i> ATCC 15308	П	0,01	0,004	0,004	0,06	0,004	0,02	0,02	1	0,06	0,006	0,04
	Б	0,1	0,06	0,06	0,5	0,2	0,1	0,1	1	0,1	0,02	0,3
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	П	0,01	0,005	0,004	0,06	0,001	0,02	0,02	1	0,03	0,006	0,02
	Б	0,1	0,13	0,25	1	1	0,2	0,1	1	0,1	0,02	0,6
Клинические штаммы												
<i>K. pneumoniae</i> B-2523/18	П	0,02	0,02	0,06	0,06	0,004	0,05	0,01	0,5	0,06	0,02	0,04
	Б	0,1	0,25	0,06	2	1	0,38	0,08	2	2	0,4	2,5
<i>K. pneumoniae</i> B-14/19	П	0,02	0,03	0,06	0,06	0,004	0,006	0,02	1	0,1	0,02	0,01
	Б	0,1	0,5	0,06	0,5	0,5	0,38	0,3	2	0,5	0,1	1,3
<i>K. pneumoniae</i> B-101/19	П	0,02	0,03	0,02	0,06	0,01	0,012	0,04	2	0,02	0,02	0,02
	Б	0,1	0,25	0,04	1	0,5	0,38	0,08	2	0,25	0,05	1,3
<i>A. baumannii</i> B-2996/18	П	0,02	0,03	0,02	0,06	0,01	0,006	0,02	2	0,02	0,02	0,01
	Б	0,5	0,13	0,06	1	0,25	0,38	0,1	2	0,1	0,05	1,3
<i>P. aeruginosa</i> B-2099/18	П	0,13	0,13	0,008	0,031	0,01	0,012	0,16	2	0,03	0,02	0,02
	Б	2	0,25	1	2	1	0,38	0,3	2	0,5	3	2,5
<i>P. stuartii</i> B-2426/18	П	0,06	0,06	0,008	0,031	0,004	0,023	0,08	0,5	0,03	0,02	0,02
	Б	1	2	1	1	1	0,72	1,2	4	2	1,5	2,5

Примечание. П – планктонные клетки, Б – биоплёнки. I – «Биодез-Оптима», II – «Дезин», III – «Биодез-Экстра ДВУ», IV – «Новодез-Актив», V – «Триосепт-Окси», VI – «САТ-22», VII – «Микробак Форте», VIII – «Тристел Фьюз», IX – «Эффект-Форте плюс», X – «Лактик-Окси» XI – «Необак-Окси». Жирным шрифтом отмечены значения МБК, превышающие рекомендованную к использованию концентрацию.

B-2523/18 и *P. stuartii* B-2426/18, что, вероятно, связано с тем, что данный препарат разрушал биоплёнку. Все исследуемые штаммы бактерий в планктонном состоянии и в виде биоплёнок, за исключением биоплёнки штамма *P. stuartii* B-2426/18, проявляли чувствительность к средству «Тристел-Фьюз» (табл. 5).

Большинство использованных в работе штаммов в планктонном состоянии и в виде биоплёнок, за исключением штаммов *A. baumannii* ATCC 15308 и *E. cloacae* ATCC 1304, устойчивы к дезсредству «Биодез-Оптима» в концентрации 0,05%, (что соответствует концентрации алкилдиметилбензиламмоний хлорида 1,25%), рекомендованной производителем как губительная для бактерий, вирусов, микобактерий, грибов.

Штаммы *K. pneumoniae* B-2523/18 и *K. pneumoniae* B-14/19 в планктонном состоянии и в виде биоплёнок чувствительны к дезсредству «Биодез-Экстра ДВУ» в применяемой в отделении нейрореанимации концентрации 0,05%, что соответствует концентрациям ДВ: 1,2% смеси ЧАС, 0,35% глутарового альдегида и 0,3% глиоксаля. В состоянии биоплёнки все исследуемые штаммы кроме *K. pneumoniae* B-101/19 проявляли устойчивость к данному препарату в этой концентрации.

Средство «Новодез-Актив» (смесь ЧАС, N,N-бис(3-аминопропил)додециламин) в используемой в отделении нейрореанимации концентрации 0,5% эффективно против всех исследуемых штаммов бактерий в планктонном состоянии, все клинические штаммы, кроме *K. pneumoniae* B-14/19, типовые штаммы *P. aeruginosa* ATCC 2785 и *E. cloacae* ATCC 13047 проявляли устойчивость в состоянии биоплёнки.

Препарат «Триосепт-Окси» в применяемой в отделении нейрореанимации концентрации 0,15% (перекись водорода 3,75%, дидецилдиметиламмоний хлорид 0,75%) эффективен против всех исследуемых штаммов бактерий в планктонном состоянии, в состоянии биоплёнки все исследуемые штаммы устойчивы к данному препарату.

Дезсредства «Микробак-Форте» (бензалконий хлорид, додецилбиспропилен триамин) и «САТ-22» (смесь ЧАС, N,N-бис(3-аминопропил)додециламин, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид) в применяемых концентрациях 2,5 и 1,5%, соответственно, эффективны против всех исследуемых штаммов бактерий как в планктонном состоянии, так и в виде биоплёнок (табл. 5). Данные показатели чувствительности укладываются в диапазон концентраций, рекомендованных производителями (0,5-1% и 0,01-

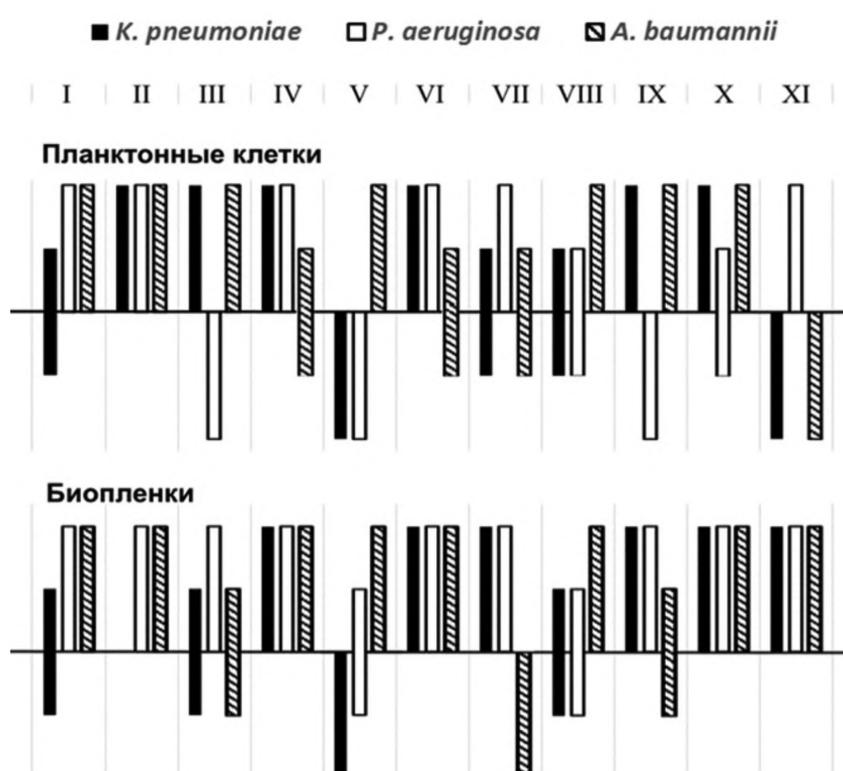


Рис. 1. Сравнение устойчивости к тестируемым дезинфектантам у клинических и типовых штаммов бактерий *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*: I – «Биодез-Оптима», II – «Дезин», III – «Биодез-Экстра ДВУ», IV – «Новодез-Актив», V – «Триосепт-Окси», VI – «САТ-22», VII – «Микробак Форте», VIII – «Тристел Фьюз», IX – «Эффект-Форте плюс», X – «Лактик-Окси» XI – «Необак-Окси».

1%, соответственно) против бактерий, микобактерий, вирусов.

Дезинфектант «Необак-Окси» (комплекс ЧАС, полигексаметиленгуанидин гидрохлорид, перекись водорода) в применяемой в отделении концентрации 5% эффективно против всех исследуемых штаммов бактерий, как в планктонном состоянии, так и в виде биопленок, в концентрации 0,5% все исследованные штаммы кроме *A. baumannii* ATCC 15308, в состоянии биопленки проявили устойчивость к данному препарату.

Клинический штамм *K. pneumoniae* В-14/19, типовые штаммы *P. aeruginosa* ATCC 27853 и *A. baumannii* ATCC 15308 проявили чувствительность к средству «Эффект-форте плюс» в планктонном состоянии, в состоянии биопленки все исследуемые штаммы кроме *K. pneumoniae* В-2523/18 устойчивы к применяемой в отделении нейрореанимации концентрации 0,05% соответствующей 1% клатрата дидецилдиметиламмония бромид, 0,25% алкилдиметилбензиламмоний хлорида, 0,15% полигексаметиленбигуанидина.

Дезинфектант «Лактик-окси» эффективно против всех исследуемых штаммов бактерий в планктонном состоянии, в виде биопленки типовой штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853, клинические *K. pneumoniae* В-2523/18, *P. aeruginosa* В-2099/18, *P. stuartii* В-2426/18 проявили устойчивость к данному средству в используемой в отделении концентрации 0,2%, что соответствует 12% ДВ перексомоносульфата калия (см. табл. 5).

Основываясь на показателях МБК тестируемых дезинфектантов полученных для референс- и клинических штаммов планктонном состоянии, а также в виде биопленки выявлено, что клинические штаммы в подавляющем большинстве более устойчивы к тестируемым дезинфектантам, по сравнению с референс-штаммами (рис. 1).

При определении чувствительности типовых штаммов *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *A. baumannii* ATCC 15308, *E. cloacae* ATCC 13047 и клинических штаммов *K. pneumoniae* В-2523/18, *K. pneumoniae* В-14/19, *K. pneumoniae* В-101/19, *A. baumannii* В-2996/18, *P. aeruginosa* В-2099/18, *P. stuartii* В-2426/18 к антисептикам показано, что все штаммы в планктонном состоянии чувствительны к тестируемым антисептикам. Антисептики – готовые к применению препараты, которые используются без разведения.

Штаммы *P. aeruginosa* ATCC 27853 и *P. aeruginosa* В-2099/18 в состоянии биопленки обладают устойчивостью к антисептикам «Октенисепт» и «Мирамистин», штамм *P. stuartii* В-2426/18 в состоянии биопленки обладает устойчивостью к антисептикам «Октенидол», «Октенисепт», «Мирамистин», «Гексорал». Штамм *E. cloacae* ATCC 13047 в состоянии биопленки обладает устойчивостью к антисептику «Октенисепт», в планктонном виде и в состоянии биопленки обладает устойчивостью к антисептику «Мирамистин» (табл. 6).

Обсуждение. В ходе исследования использован методический подход, позволяющий проводить срав-

Чувствительность к антисептикам бактерий, в планктонном состоянии и в виде биоплёнок

Штамм		XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII	XIX
Референс-штаммы									
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 700603	П	+	+	+	+	+	+	+	+
	Б	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	П	+	+	+	+	+	+	+	+
	Б	+	+	+	-	+	+	-	+
<i>A. baumannii</i> ATCC 15308	П	+	+	+	+	+	+	+	+
	Б	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>E. cloacae</i> ATCC 13047	П	+	+	+	+	+	+	-	+
	Б	+	+	+	-	+	+	-	+
Клинические штаммы									
<i>K. pneumoniae</i> В-2523/18	П	+	+	+	+	+	+	+	+
	Б	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>K. pneumoniae</i> В-14/19	П	+	+	+	+	+	+	+	+
	Б	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>K. pneumoniae</i> В-101/20	П	+	+	+	+	+	+	+	+
	Б	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>A. baumannii</i> В-2926/18	П	+	+	+	+	+	+	+	+
	Б	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>P. aeruginosa</i> В-2099/18	П	+	+	+	+	+	+	+	+
	Б	+	+	+	-	+	+	-	+
<i>P. stuartii</i> В-2426/18	П	+	+	+	+	+	+	+	+
	Б	+	+	-	-	+	+	-	-

Примечание. П-планктонные клетки, Б – биоплёнки; «+» – антисептики, эффективные против тестируемых штаммов бактерий; «-» – антисептики, не эффективные против тестируемых штаммов бактерий; XII – «Бонадерм-АФ», XIII – «Мелисептол Рапид», XIV – «Октенидол», XV – «Октенисепт», XVI – «Триосепт-Экспресс», XVII – «Бацилол-Плюс», XVIII – «Мирамистин», XIX – «Гексорал».

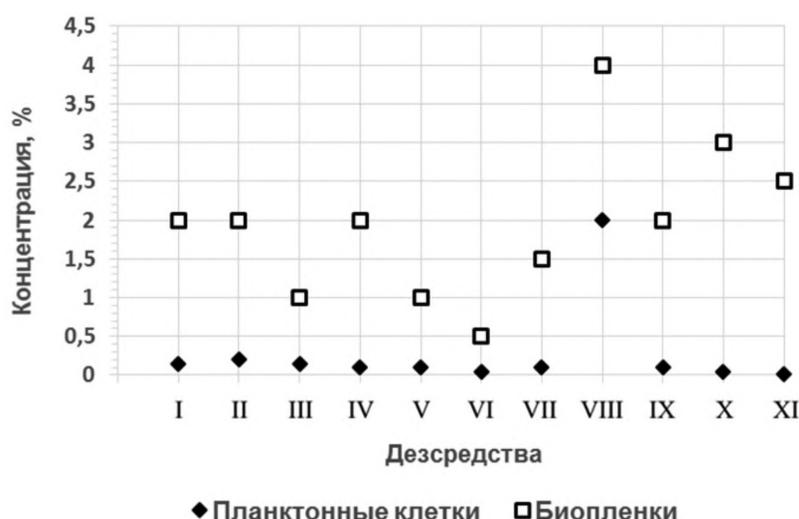


Рис. 2. Рекомендуемые концентрации дезинфекционных средств (по препарату), эффективные против планктонных культур и биопленок *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *P. stuartii* и *E. cloacae*.

нительный анализ чувствительности микроорганизмов к АМП, в том числе к антисептикам и дезинфектантам, в планктонном состоянии и для биоплёнок. Показано, что в подавляющем большинстве случаев

биоплёнки типовых штаммов *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *A. baumannii* ATCC 15308, *E. cloacae* ATCC 13047 и клинических штаммов *K. pneumoniae* В-2523/18, *K. pneumoniae* В-14/19,

K. pneumoniae В-101/19, *A. baumannii* В-2996/18, *P. aeruginosa* В-2099/18, *P. stuartii* В-2426/18 проявляли значительно большую устойчивость к дезсредствам, по сравнению с планктонными клетками.

Установлено, что дезсредства «Микробак-Форте», «САТ-22», «Необак-Окси» в концентрациях по ДВ, применяемых для обработки абиотических поверхностей (0,63, 0,17, 1,54% соответственно), эффективны против всех исследуемых штаммов бактерий как в планктонном состоянии, так и в виде биоплёнок.

Дезсредство «Биодез-Оптима» оказалось неэффективно против всех исследуемых штаммов бактерий в использованной в исследовании максимальной концентрации по ДВ (0,01%), поэтому для эффективного применения следует использовать более высокие концентрации данного дезсредства по ДВ 0,38-0,15% для планктонных клеток бактерий и 2% для биоплёнок.

Для дезсредств «Биодез-Экстра ДВУ», «Новодез-Актив», «Триосепт-Окси», «Тристел Фьюз для поверхностей», «Эффект-Форте плюс», «Лактик-Окси» показано отсутствие действия на биоплёнку исследуемых штаммов бактерий, поэтому предложено использование более высоких концентраций по ДВ: 0,12% – «САТ-22»; 0,5% – «Биодез-Экстра ДВУ», 0,3% – «Триосепт-Окси»; 0,38% – «Микробак-Форте»; 0,5% – для дезсредств «Биодез-Оптима», 0,4% – «Дезин», 1% – «Новодез-Актив», 0,4% – «Эффект-Форте плюс»; 2,5% – «Необак-Окси»; 3% – «Лактик-Окси», 4% – для «Тристел Фьюз для поверхностей».

Представляется необходимым скорректировать концентрации дезсредств применяемых против планктонных клеток: 0,1% для «Необак-Окси»; 0,5% – для дезсредств «Лактик-Окси», 0,012% «САТ-22»; 0,4% – для «Новодез-Актив», 0,05% «Триосепт-Окси», 0,03% «Микробак-Форте», 0,02% «Эффект-Форте плюс»; 0,03% для «Биодез-Оптима», 0,1% «Биодез-Экстра ДВУ», 2% для «Тристел Фьюз для поверхностей».

На основании проведённого анализа чувствительности исследуемых штаммов бактерий к дезсредствам, можно обозначить концентрации дезсредств, которые могут быть эффективны против планктонных клеток и биоплёнок этих штаммов бактерий (рис. 2).

Выявлено, что дезсредство «Биодез-Экстра ДВУ» (смесь ЧАС, глутаровый альдегид, глиоксаль) способно подавлять рост биоплёнок *K. pneumoniae*, снижая МБК данного штамма до уровня планктонных клеток. Для дезсредства «Тристел Фьюз» (диоксид хлора, образующийся при смешении лимонной кислоты и хлорита натрия) для поверхностей выявлена способность подавлять рост биоплёнок *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*. Диоксид хлора обладает высоким окислительным потенциалом и способностью проникать сквозь защитные барьеры биоплёнки, реагирует с органическими веществами на поверхности клеточной мембраны, нарушая обменные процессы внутри биоплёнки [25 – 27]. Эти данные согласуются с результатами исследования М. Ехнер и соавт. [28] по предотвращению и контролю инфекций в учреждениях здравоохранения, в котором сообщалось, что диоксид хлора является эффективным методом удаления и предотвращения биоплёнок.

При определении чувствительности типовых штаммов *K. pneumoniae* ATCC 700603, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *A. baumannii* ATCC 15308, *E. cloacae* ATCC 13047 и клинических штаммов *K. pneumoniae* В-2523/18, *K. pneumoniae* В-14/19, *K. pneumoniae* В-101/19, *A. baumannii* В-2996/18, *P. aeruginosa* В-2099/18, *P. stuartii* В-2426/18 к антисептикам показано, что все штаммы в планктонном состоянии, кроме *E. cloacae* ATCC 13047 чувствительны к тестируемому антисептику. Штаммы *P. aeruginosa* ATCC 27853, *P. aeruginosa* В-2099/18, *E. cloacae* ATCC 13047 в состоянии биоплёнки обладают устойчивостью к антисептикам «Октенисепт» и «Мирамистин», штамм *P. stuartii* В-2426/18 в состоянии биоплёнки обладает устойчивостью к антисептикам «Октенидол», «Октенисепт», «Мирамистин», «Гексорал».

Проведено сравнение устойчивости типовых и клинических штаммов исследуемых бактерий, на основании которого выявлено, что клинические штаммы в подавляющем большинстве более устойчивы к тестируемому дезсредству по сравнению с типовыми.

Проведённые исследования указывают на необходимость углублённого анализа чувствительности к АМП госпитальных патогенов, включая моделирование биоплёнок для оценки реальной чувствительности к антисептикам и дезинфектантам, что является актуальным и важным научным направлением, необходимым для совершенствования контроля ИСМП в Российской Федерации.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Отраслевой программы Роспотребнадзора.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп 1-10, 13, 15-19, 21-25, 28 см. REFERENCES)

11. Зверьков А. В., Зузова А. П. Хлоргексидин: прошлое, настоящее и будущее одного из основных антисептиков. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2013; 15(4): 279-85.
12. Шкарин В. В. Благоданова А. С., Ковалишенина О. В. Современные представления о механизмах устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам. *Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы*. 2011; 3: 48-53.
14. Осипова В. Л. *Дезинфекция: Учебное пособие*. Москва: ГЭО-ТАР-Медиа; 2009.
20. Детушева Е. В., Родин В. Б., Слуккин П. В., Чугунов В. А., Ершова О. Н., Александрова И. А. и др. Чувствительность нозокомиальных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и *Proteus mirabilis* к антисептику на основе хлоргексидина. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015; 17(1): 57-66.
26. Петренко Н. Ф., Мокиенко А. В. Диоксид хлора как средство устранения биоплёнок. *Вісник Одеської державної академії будівництва та архітектури*. 2005; 19: 58-63.
27. Мокиенко А. В., Петренко Н.Ф., Гоженко А.И. Обеззараживание воды. Гигиенические и медико-экологические аспекты. Т. 2. Диоксид хлора. Одесса: ТЭС; 2012.

REFERENCES

1. Donlan R. M., Costerton W. Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical Microbiology Reviews*. 2002. 15(2): 167-93.
2. Kadam S., Shai S., Shahane A., Kaushik K. S. Recent advances in non-conventional antimicrobial approaches for chronic wound

- biofilms: Have we found the ‘chink in the armor’? *Biomedicines*. 2019; 7(2): 35.
3. Malone M., Goeres D.M., Gosbell I., Vickery K., Jensen S., Stoodley P. Approaches to biofilm-associated infections: the need for standardized and relevant biofilm methods for clinical applications. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2017; 15(2):147-56.
 4. Percival S. L., Vuotto C., Donelli G., Lipsky B. A. Biofilms and wounds: an identification algorithm and potential treatment options. *Adv Wound Care (New Rochelle)*. 2015; 4(7): 389-97.
 5. Sanchez-Vizuete P., Orgaz B., Aymerich S., Coq D. Le, Briandet R. Pathogens protection against the action of disinfectants in multispecies biofilms. *Front Microbiol.* 2015; 6: 705.
 6. Di Lodovico S., Cataldi V., Di Campi E., Ancarani E., Cellini L., Di Giulio M. *Enterococcus hirae* biofilm formation on hospital material surfaces and effect of new biocides. *Environ Health Prev Med.* 2017; 22: 63.
 7. Shen Y., Huang C., Monroy G. L., Janjaroen D., Derlon N., Lin J. et al. Response of simulated drinking water biofilm mechanical and structural properties to long-term disinfectant exposure. *Environ Sci Technol.* 2016; 50(4): 1779-87.
 8. Oxaran V., Dittmann K. K., Lee S. H. I., Chaul L. T., Oliveira C. A. F. Corassin C.H., Alves V. F., Pereira De Martinis E. C., Gram L.. Behavior of foodborne pathogens *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in mixed-species biofilms exposed to biocides. *Appl. Environ Microbiol.* 2018; 84(24): e02038-18.
 9. Davis S. C., Ricotti C., Cazzaniga A., Welsh E., Eaglstein W. H., Mertz P. M. Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization *in vivo*. *Wound Repair Regen.* 2008;16(1): 23-9.
 10. Cooper I. R., Mahenthiralingam J., Hanlon G W. Long-term persistence of a single *Legionella pneumophila* strain possessing the mip gene in a municipal shower despite repeated cycles of chlorination. *J. Hosp. Infect.* 70: 154-9.
 11. Zver'kov A. V., Zuzova A. P. Chlorhexidine: past, present and future of one of the main antiseptics. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya*. 2013; 15(4): 279-85. (in Russian)
 12. Shkarin V. V. Blagonravova A. S., Kovalishena O. V. Modern views on the mechanisms of resistance of microorganisms to disinfectants. *Epidemiologiya i infeksionnye bolezni. Aktual'nye voprosy*. 2011; 3: 48-53. (in Russian)
 13. Denyer S.P, Stewart GSAB. Mechanisms of action of disinfectants. *Int. Biodeter Biodegrad.* 1998;41:261-8.
 14. Osipova V. L. Desinfection: study guide. Moscow: GEOTAR-Media; 2009. (in Russian)
 15. Bardossy A. C., Zervos J., Zervos M. Preventing hospital-acquired infections in low-income and middle-income countries: impact, gaps, and opportunities. *Infect. Dis. Clin. North. Am.* 2016; 30(3):805-18.
 16. Lev A. I., Astashkin E. I., Kislichkina A. A., Solovieva E. V., Kombarova T. I., Korobova O. V. et al. Comparative analysis of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in 2012-2016 that differ by antibiotic resistance genes and virulence genes profiles. *Pathog. Glob. Health.* 2018; 112 (3):142-51.
 17. Dyatlov I., Astashkin E., Kartsev N., Ershova O., Svetoch E., Firstova V., Fursova N. Novel blaCTX-M-2-type gene coding extended spectrum beta-lactamase CTX-M-115 discovered in nosocomial *Acinetobacter baumannii* isolates in Russia. In: Multidisciplinary Approaches for Studying and Combating Microbial Pathogens Formatex Research Center. Boca Raton, Florida, USA: Brown Walker Press; 2015.
 18. O'Toole G.A. Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol. Microbiol.* 1998; 28(3): 449-61.
 19. Rodrigues L.B., Dos Santos L.R., Tagliari V.Z., Rizzo N.N., Trenhago G., de Oliveira A.P., Goetz F., do Nascimento V.P. Quantification of biofilm production on polystyrene by *Listeria*, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolated from a poultry slaughterhouse. *Braz. J. Microbiol.* 2010; 41(4): 1082-5.
 20. Detusheva E.V., Rodin V.B., Slukin P.V., Chugunov V.A., Ershova O.N., Aleksandrova I.A. et al. Sensitivity of nosocomial strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and *Proteus mirabilis* to a chlorhexidine-based antiseptic. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2015; 17 (1): 57-66. (in Russian)
 21. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8:632-3.
 22. Flemming H. C., Wingender J., Szewzyk U., Steinberg P., Rice S. A., Kjelleberg S. Biofilms: an emergent form of bacterial life. *Nat. Rev. Microbiol.* 2016;14: 563-75.
 23. Król J. E., Hall D. C., Balashov S., Pastor S., Sibert J., McCaffrey J., Lang S., Ehrlich R. L., Earl J, Mell J. C., Xiao M., Ehrlich G. D. Genome rearrangements induce biofilm formation in *Escherichia coli* C – an old model organism with a new application in biofilm research. *BMC Genomics*. 2019; 20(1): 767.
 24. Ghigo J.M. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature*. 2001; 412(6845): 442-5.
 25. Mayack L. A., Soracco R. J., Wilde E. W. Comparative effectiveness of chlorine and chlorine dioxide biocide régimes for biofouling control. *Water Research*. 1984; 18(5): 593-9.
 26. Petrenko N.F., Mokienco A. V. Chlorine dioxide as a means of eliminating biofilms. *Visnik Odes'koï derzhavnoi akademii budivnictva ta arhitekturi*. 2005; 19. 58-63. (in Russian)
 27. Mokienco A. V., Petrenko N. F., Gozhenko A. I. Water disinfection. Hygienic and medical-ecological aspects. V. 2. Chlorine dioxide [Obezrazhivanie vody. Tom 2. Dioksid khloro]. Odessa: TES; 2012. (in Russian)
 28. Exner M., Kramer A., Lajoie L. Prevention and control of health care – associated waterborne infections in health care facilities. *Am. J. Infect. Control.* 2005; 33: 26-40.

Поступила 15.07.20

Принята к печати 01.09.20