

Экспериментальное обоснование эффективности применения покрытых серебром силиконовых урологических катетеров

Гизатуллина Ю.С.^{1,2}, Аптуков В.Н.², Морозов И.А.³, Митин В.Ю.², Старчич Эржавец М.⁴, Кузнецова М.В.¹

¹ Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН, филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

² ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет», Пермь, Россия

³ Институт механики сплошных сред УрО РАН, филиал ПФИЦ УрО РАН, Пермь, Россия

⁴ Люблянский университет, Любляна, Словения

Контактный адрес:

Марина Валентиновна Кузнецова
Эл. почта: mar@iegm.ru

Ключевые слова: биопленки, UPEC, катетер, адгезия, колонизация.

Цель. Изучить колонизационную активность клинических штаммов уропатогенной *Escherichia coli* (UPEC) в отношении различных урологических катетеров.

Материалы и методы. Биопленки UPEC ($n = 6$) формировали в течение 24 ч. по стандартной методике. В качестве атакуемых поверхностей были использованы урологические катетеры из латекса, поливинилхлорида, силикона и силикона с серебряным напылением. Оценивали шероховатость, гидрофобность поверхности, биомассу и число жизнеспособных клеток в биопленках, а также частоту конъюгации.

Результаты. Количество адгезированных на различных поверхностях клеток *E. coli* через 2 ч. варьировало от $10E + 02$ до $10E + 04$ КОЕ/мл/см² и достоверно не различалось между катетерами. Через 6 ч. инкубации число прикрепившихся бактерий увеличивалось на порядок во всех вариантах. Данная тенденция сохранялась в течение суток для всех материалов (W -test: $p = 0,001$), за исключением силикона с серебряным напылением, где, напротив, число жизнеспособных клеток было меньше по сравнению с 6-часовой колонизацией. В период 2–6 ч. скорость прироста бактерий увеличивалась с ростом параметра шероховатости, а в период 6–24 ч. наблюдалась ярко выраженная обратная зависимость. Связь между показателями биомассы суточной биопленки и гидрофобности катетера была положительной ($R_s = 0,69$; $p < 0,05$). Выявлено снижение частоты внутривидового горизонтального переноса генов в биопленках на катетере с серебряным покрытием.

Выводы. Включение ионов серебра в поверхность силикона не ингибировало адгезию бактерий, но снижало жизнеспособность клеток в зрелых биопленках. Использование серебряного покрытия может быть одним из методов уменьшения частоты катетер-ассоциированных инфекций мочевых путей путем подавления выживаемости бактерий и конъюгации без учета действия антибактериальных препаратов при длительных сроках эксплуатации катетера.

Experimental evidence of antimicrobial effect of silver-coated silicon urological catheters

Gizatullina Yu.S.^{1,2}, Aptukov V.N.², Morozov I.A.³, Mitin V.Yu.², Starčič Erjavec M.⁴, Kuznetsova M.V.¹

¹ Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of the Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

² Perm State National Research University, Perm, Russia

³ Institute of Continuous Media Mechanics of the Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm, Russia

⁴ University of Ljubljana, Ljubljana, Slovenia

Contacts:

Marina V. Kuznetsova
E-mail: mar@iegm.ru

Key words: biofilm, UPEC, catheter, adhesion, colonization.

Objective. To study the colonization activity of clinical strains of uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) against various types of urological catheters.

Materials and methods. Biofilms of *E. coli* ($n = 6$) were formed for 24 h according to the standard method. Urological catheters made from latex, polyvinylchloride, silicon and silver-coated silicon were used as a surface for bacterial colonization. The surface roughness and hydrophobicity, biofilm mass, number of colony forming units in biofilm, and frequency of conjugation were assessed.

Results. The number of *E. coli* cells adhered on different surfaces after 2 h of incubation varied from $10E + 02$ to $10E + 04$ CFU/ml/cm² and was not significantly different between the catheters types. After 6 h of incubation, the number of attached bacteria was increased by an order of magnitude for all catheter types. This trend was consistent throughout the 24 h across all materials (W -test: $p = 0.001$), with the exception of silver-coated silicone where the number of viable bacteria was lower compared to that after the 6-hour colonization. Over the period of 2-6 h, the bacterial growth rate was increasing with an increase in the catheter's roughness, and over the period of 6-24 h, the significant inverse relationship was observed. There was a positive correlation between the biomass of the 24-hour biofilm and the catheter's hydrophobicity ($R_s = 0.69$; $p < 0.05$). A decrease in the frequency of horizontal gene transfer within the biofilm on a silver-coated catheter was also found.

Conclusions. An addition of silver ions into the silicone surface did not inhibit bacterial adhesion, but reduced cell viability at the advanced stages of biofilm formation. The use of silver coating may be a way to reduce the incidence of catheter-associated UTI through suppression of bacterial conjugation and survival when urinary catheters are used for a long-term period.

Введение

Широкое применение в урологической практике биологических и искусственных материалов, на поверхности которых формируются бактериальные биопленки, повышает риск персистенции возбудителя в организме [1]. Кроме того, в биопленках происходит активная передача генетического материала между бактериями, в результате которой могут формироваться новые, в том числе полирезистентные, субпопуляции микроорганизмов [2]. На сегодняшний день остро стоит проблема катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей (КАИМП), которые чаще всего вызваны штаммами уропатогенной *Escherichia coli* (UPEC) [3]. Несмотря на то что не все материалы в биомедицинской практике одинаково подвержены колонизации бактериями, любой катетер, независимо от срока его эксплуатации, является дополнительным фактором риска развития инфекции [4]. Ferrière L. и соавт. (2007) показали, что силиконовые и латексные катетеры способствуют формированию биопленки для группы штаммов UPEC, в отличие от комменсальных культур *E. coli* [5]. В работе Russell J.C. (2000) различий в биомассе биопленок *E. coli*, образованных на латексе и поливинилхлориде (ПВХ), обнаружено не было [6]. Однако выявлено, что некоторые виды микроорганизмов формируют более массивные биопленки на силиконовых катетерах (без покрытия), чем на латексе или ПВХ [1]. С целью снижения возникновения КАИМП разрабатываются катетеры с антибактериальными покрытиями, в том числе импрегнированные ионами серебра. В литературе встречаются противоречивые данные об их эффективности: одни исследования показывают, что серебряное напыление обладает выраженным антимикробным действием в отношении разных видов микроорганизмов, включая *E. coli* [7–9], другие не подтверждают различий в бактериальной колонизации поверхности [10, 11]. Несмотря на современное разнообразие урологических катетеров, вопрос о преимуществе использования конкретного типа остается открытым.

Цель данной работы – изучить колонизационную активность штаммов UPEC в отношении различных урологических катетеров, а также оценить эффективность серебряного напыления в качестве антимикробного фактора.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись клинические уропатогенные культуры *E. coli* Amp^r (n = 6) с индивидуальным генотипом согласно ERIC-типированию и разной биопленкообразующей способностью на полистироле. В качестве донора плазмиды с геном резистентности к антибиотику был использован штамм *E. coli* N4i (pOX38: Cm) Gm^r [12].

В качестве колонизируемых поверхностей были взяты коммерческие модели катетеров, разрешенных к использованию в медицинской практике: Фолея 2-ходовой (латекс, силикон с серебряным напылением) и Нелатона (имплантационно-нетоксичный медицинский поливинилхлорид, силикон) (Aprexmed International BV,

Нидерланды). Потенциальную атакуемую площадь рассчитывали по формулам (1) для ПВХ, (2) для латекса и (3) для силикона и силикона с серебряным напылением, где R_1 – наружный радиус, R_2 , R_3 – внутренние радиусы, a , b – стороны прямоугольного хода (для силикона и силикона с серебряным напылением), h – длина фрагмента:

$$(1) S = 2\pi h \times (R_1 + R_2) + 2\pi \times (R_1^2 - R_2^2)$$

$$(2) S = 2\pi h \times (R_1 + R_2 + R_3) + 2\pi \times (R_1^2 - R_2^2 - R_3^2)$$

$$(3) S = 2\pi h \times (R_1 + R_2 + R_3) + 2 \times (ab + ah + bh) + 2 \times (\pi R_1^2 - \pi R_2^2 - \pi R_3^2 - ab)$$

Для характеристики структуры поверхности материала использовали оптический цифровой 3D-видеомикроскоп Hirox KH-7700 (Япония) в режиме измерения пространственного рельефа при помощи изменения фокусного расстояния камеры. Регистрировали снимки с разных участков поверхности при масштабе 220 × 165 мкм, что позволяло проводить усреднение показателей микрорельефа. Рассчитывали средние значения параметра шероховатости материала – R_a (среднее арифметическое абсолютных отклонений профиля в пределах базовой длины согласно ГОСТ 2789-73) по строкам и столбцам матрицы оптических измерений высоты рельефа поверхности. Гидрофобность поверхности определяли по количеству нафталина, адсорбированного материалом из насыщенного водного раствора этого вещества [13].

Биопленки формировали на фрагментах катетеров (1 см) в 1 мл среды Лурия – Бертани (LB-среда) в лунках плоскостного 24-луночного планшета в течение суток. Количество жизнеспособных клеток в биопленках оценивали по числу колониеобразующих единиц (КОЕ/мл/см²) через 2, 6 и 24 ч. экспозиции на селективных средах. Фрагменты катетеров дважды отмывали физиологическим раствором (0,89% NaCl), затем обрабатывали планшеты ультразвуком 5 раз по 1 мин. (Elma Ultrasonic 30S, Германия) и делали высевы из десятичных разведений суспензии. Количество адгезированных жизнеспособных клеток сравнивали с учетом площади поверхности (в пересчете на 1 см²). Скорость прироста клеток рассчитывали как КОЕ/см²/ч. Биомассу биопленок оценивали согласно методике Merritt J.H. и соавт. [14]. Измеряли оптическую плотность спиртовых растворов после экстракции 0,1% раствором генцианового фиолетового на планшетном ридере Tecan infinite M1000 (Tecan, Австрия) при длине волны 570 нм в ОЕ.

Частоту конъюгации в смешанных биопленках *E. coli* N4i (донор) и UPEC (реципиенты, n = 6) определяли через 24 ч. как отношение числа жизнеспособных клеток трансконъюгантов к числу реципиентов согласно методике Guglielmetti S. и соавт. [15].

Статистическую обработку данных проводили с использованием стандартных пакетов компьютерных программ Microsoft Office XP Excel и STATISTICA 10. Показатели представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1–Q3). Корреляционный анализ проводили с помощью коэффициента Спирмена (Rs). Достоверность различий определяли с помощью теста Вилкоксона (W-test), различия считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты

На Рисунке 1 представлены внешний вид использованных в работе урологических катетеров и 3D-изображения рельефа поверхности, полученные с помощью оптического микроскопа. По результатам теста с адсорбцией нафталина материалы расположились в порядке роста гидрофобности: силикон (11,26 мкг/мл), ПВХ (17,55 мкг/мл), латекс (20,52 мкг/мл), силикон с серебряным напылением (103,95 мкг/мл). Обработка данных микроскопии поверхности позволила получить следующие значения параметра шероховатости (Ra): для латекса – 0,457 мкм, для ПВХ – 0,273 мкм, для силикона – 0,160 мкм и для силикона с серебряным напылением – 1,560 мкм (Рисунок 2). Проверка корреляционной зависимости между показателями гидрофобности и шероховатости поверхности выявила сильную связь ($R_s = 0,99$; $p < 0,05$). Это означает, что гидрофобность, являющаяся характеристикой интенсивности молекулярного взаимодействия вещества с водой, в значительной степени зависит и от геометрических параметров материала, в данном случае от шероховатости. Отмечено, что покрытие силикона серебром увеличивало оба показателя более чем в 9 раз.

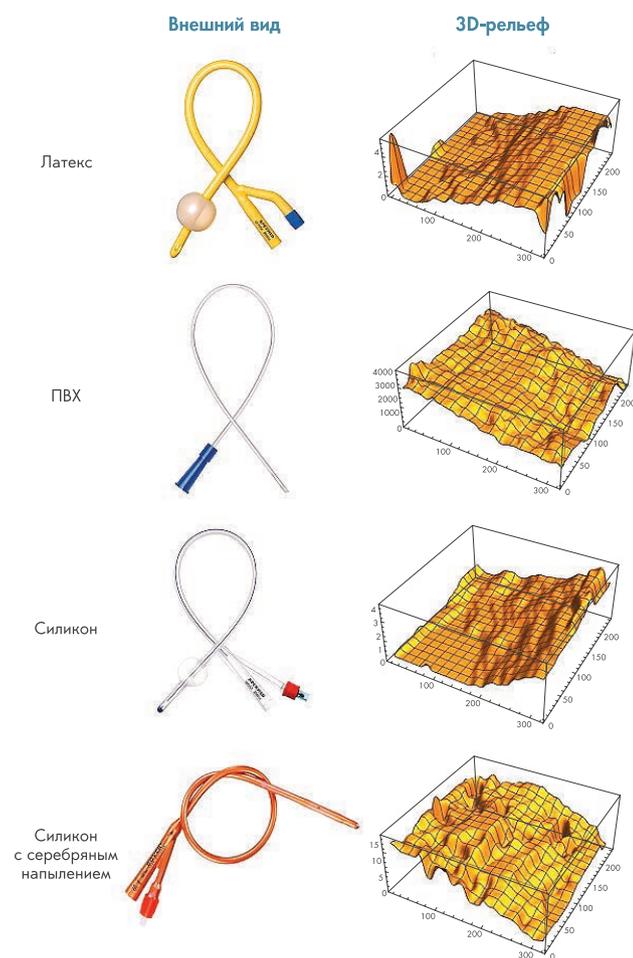


Рисунок 1. Внешний вид и 3D-изображения рельефа поверхности урологических катетеров
Фотографии катетеров взяты с сайта www.apexmed.ru

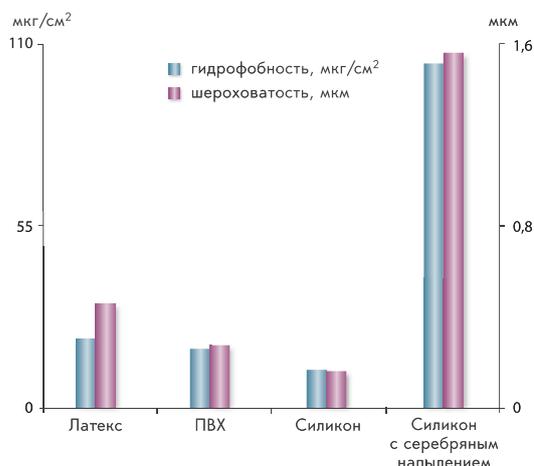


Рисунок 2. Показатели гидрофобности и шероховатости поверхности катетеров

Количество адгезированных клеток *E. coli* на различных материалах через 2 ч. варьировало от $10E + 02$ до $10E + 04$ КОЕ/мл/см², но не различалось между катетерами (Рисунок 3). Через 6 ч. инкубации число бактерий, прикрепившихся к поверхности, увеличилось на порядок во всех вариантах (W-test: $p < 0,001$). Средние скорости колонизационной активности бактерий на втором этапе (2–6 ч.) для латекса, ПВХ, силикона и силикона с серебряным покрытием были сопоставимы и составили $7,36E + 03$, $5,69E + 03$, $4,74E + 03$, $7,31E + 03$ КОЕ/см²/ч соответственно. При экспозиции фрагментов катетеров в течение суток количество жизнеспособных клеток в биопленках достоверно увеличивалось для всех материалов (W-test: $p = 0,001$), за исключением силикона с серебряным напылением, где, напротив, обнаружено снижение числа бактерий в сравнении с 6-часовой колонизацией. Максимальное количество адгезированных клеток *E. coli* было определено в биопленках, сформированных на поверхности силиконового катетера. Скорость изменения количества жизнеспособных бактерий

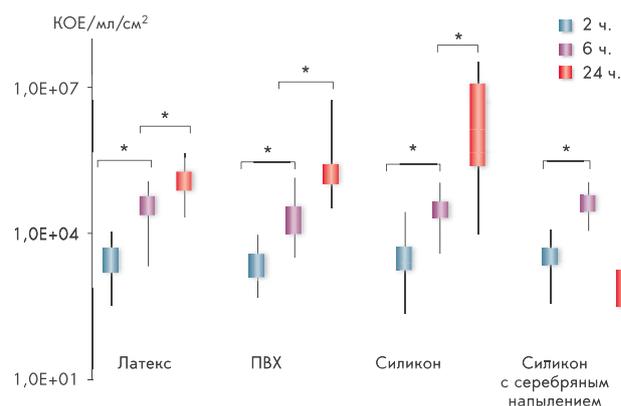


Рисунок 3. Число жизнеспособных клеток *E. coli* на различных поверхностях
* Достоверное различие ($p < 0,05$).

(6–24 ч.) для латекса и ПВХ оставалась на прежнем уровне ($4,03E + 03$ и $6,59E + 03$ КОЕ/см²/ч), для силикона увеличилась на два порядка ($6,77E + 05$ КОЕ/см²/ч), для силикона с серебряным покрытием была отрицательной ($-1,69E + 03$ КОЕ/см²/ч), что объясняется антибактериальным действием серебра. Интересно, что в период 2–6 ч. скорость прироста бактерий увеличивалась с ростом параметра шероховатости, а в период 6–24 ч. наблюдалась ярко выраженная обратная зависимость (Рисунок 4).

Для гидрофобности поверхности и числа адгезированных через 2 ч. клеток выявлена отрицательная корреляция ($R_s = -0,50$; $p < 0,05$), что, скорее всего, определяется степенью гидрофобности клеточной стенки бактерий, т.е. клетки *E. coli* с низкой гидрофобностью эффективнее закрепляются на гидрофильных поверхностях. Еще более сильная обратная зависимость выявлена через 24 ч. ($R_s = -0,99$; $p < 0,05$), в то время как связь между показателем биомассы биопленки и гидрофобностью катетера, напротив, была положительной ($R_s = 0,69$; $p < 0,05$). Необходимо отметить, что на силиконовом катетере с серебряным напылением биомасса биопленок не была определена, т.к. показатель оптической плотности контроля (стерильный катетер) был выше, чем в попытах. Это объясняется следующим: биопленки на данном катетере были небольшие (согласно значениям ОП₅₇₀), но при этом краситель не проникал в материал, тогда как сам катетер активно его адсорбировал.

Как видно из Таблицы 1, частота конъюгации в биопленках различалась на поверхностях и была значительно ниже на силиконовом катетере с напылением серебра (*W*-test: $p = 0,027$). Несмотря на технические проблемы с измерением биомассы биопленки, формирующейся на «серебряном» катетере, для остальных материалов была обнаружена сильная отрицательная зависимость эффективности конъюгативной передачи плазмиды pOX38 от толщины биопленки *E. coli* ($R_s = -0,88$; $p < 0,05$). Штаммы, формирующие менее массивную биопленку, имели более

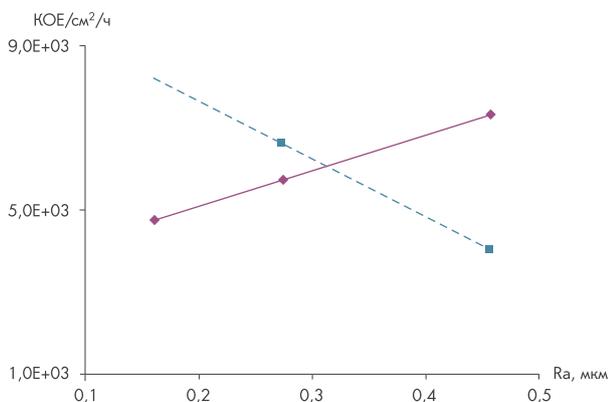


Рисунок 4. Линейные корреляционные зависимости между скоростью прироста клеток и параметром шероховатости поверхности

Сплошная линия – 6–24 ч.; пунктирная линия – 2–6 ч.
* Данные представлены без силикона с серебряным покрытием.

Таблица 1. Частота конъюгации и биомасса биопленок *E. coli* на поверхности различных катетеров

Поверхность	№	Частота конъюгации	Биомасса биопленки (ОП, 570 нм)
Латекс	1	2,77E-02 (2,94E-03–2,78E-02)	0,094 (0,076–0,150)
ПВХ	2	5,90E-02 (6,45E-03–3,18E-02)	0,042 (0,033–0,059) p^1
Силикон	3	1,44E-03 (9,88E-05–9,35E-03)	0,052 (0,048–0,060) p^1
Силикон с серебряным напылением	4	0,00E + 00 (2,89E-06–0,00E + 00) $p^{1,2,3}$	НД

Данные представлены в виде медианы (Me) и квартилей (Q1–Q3) для 6 штаммов в трех повторах.

p^n – показатель достоверно ниже, чем на поверхности n ($p < 0,05$)
НД – нет данных.

высокую эффективность сопряжения и передачи плазмиды.

Обсуждение

Молекулярные механизмы хронической персистирующей бактериальной инфекции, в частности у катетеризованных больных с заболеваниями мочевыделительной системы, активно изучаются во всем мире. Доказано, что любой катетер является фактором риска развития ИМП: уже в первые сутки после контакта с бактериальными клетками начинается процесс формирования биопленки [10]. Уропатогенный потенциал *E. coli* в первую очередь определяется их высокой адгезивной активностью и биопленкообразующей способностью [16]. Ранее для оценки степени колонизации поверхности измеряли биомассу сформированной биопленки, однако большее значение имеет жизнеспособность входящих в нее бактериальных клеток, т.к. они могут стать причиной рецидива и хронической инфекции.

Первичная адгезия бактерий и скорость развития биопленки могут определяться природой полимерного материала и поверхностью катетера. Нами показано, что первичная адгезия клеток UPEC происходила почти с одинаковой активностью на всех катетерах. Количество жизнеспособных клеток в биопленках и скорости их прироста на поверхностях, имеющих сходные значения показателей гидрофобности и шероховатости (латекс и ПВХ), статистически значимо не различались. Увеличение гидрофильности материала катетера снижало эффективность формирования 24-часовой биопленки UPEC, однако при этом гидрофильные клетки активнее колонизировали и оставались жизнеспособными на поверхностях с меньшим показателем гидрофобности. Максимальное количество жизнеспособных клеток было определено в биопленках, сформированных на поверхности силиконового катетера, т.е. на гидрофильных поверхностях в тонких биопленках выживает больше бактерий. На гидрофобных материалах, согласно дан-

ным литературы, число клеток в массивных биопленках может снижаться за счет неблагоприятных условий, таких как недостаток кислорода и питательных веществ [2]. Известно, что микроорганизмы эффективнее закрепляются на поверхности, имеющей значения шероховатости, близкие к размерам самой клетки [17]. Катетер, покрытый серебром, характеризовался «оптимальной» (для прикрепления бактерий) шероховатостью, однако количество бактерий на силиконе с серебряным напылением через 2 и 6 ч. экспозиции не отличалось от других материалов за счет антибактериального действия ионов серебра. Наиболее выраженный ингибирующий эффект покрытия был обнаружен через 24 ч. на этапе сформированной биопленки. Такое действие серебра снижает риск персистенции возбудителя в организме при длительном применении изделий медицинского назначения [18]. Именно этот аспект является определяющим при оценке эффективности использования катетеров с антибактериальным покрытием.

Механизм активности серебра обусловлен связыванием ионов металла с электрон-донорскими группами биологических молекул. Ионы взаимодействуют с ДНК и белками, участвующими в бактериальном метаболизме, а также проницаемости мембраны, вызывая дефекты в клеточной стенке бактерий [19]. Hertrick E.M. и соавт. (2006) показали, что полимеры с серебряным покрытием действуют как резервуары и способны высвобождать ионы в течение длительного времени [20], что и определяет их эффективность при длительном использовании. Горизонтальный перенос генетического материала между бактериями внутри биопленки имеет большое значение, т.к. в результате этого процесса клетки могут получать гены устойчивости к различным факторам внешней среды, в том числе антибактериальным препаратам. Конденсация генетического материала бактерий,

вызванная воздействием серебра, препятствует репликации и передаче плазмидной ДНК [21], уменьшая возможности внутривидовой изменчивости и формирования новых популяций микроорганизмов.

Заключение

В модельных экспериментах *in vitro* получены сведения, расширяющие представления о колонизационной активности *E. coli* и внутривидовом конъюгативном переносе на различных типах поверхности уретральных катетеров. Выявленные закономерности будут способствовать более глубокому пониманию особенностей персистенции UPEC и механизмов межклеточного взаимодействия бактерий в биопленках при КАИМП. Профилактика последних определяется в том числе и техническими успехами в модификации материалов катетеров, которые могут предотвратить или ингибировать формирование бактериальных биопленок. Использование серебряного покрытия может быть одним из методов уменьшения частоты КАИМП путем подавления выживаемости бактерий и конъюгации без учета действия антибактериальных препаратов при длительных сроках эксплуатации катетера.

Финансирование

Исследования выполнены в рамках проекта BI-RU/16-18-047 по программе «Открытый конкурс на софинансирование научного сотрудничества между Словенией и Российской Федерацией» в 2016–2018 гг. и частично по проекту РФФИ №19-44-590014-р_а «Биопленкообразование *Escherichia coli* как триггер катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей».

Литература

- Nemets E.A., Younes R.A., Hudoshin A.K., Gabrielyan N.I., Sevastyanov V.I. Biofilm formation by hospital flora strains isolated from patients' biological substrates on the surface of materials and medical products. *Vestnik transplantologii i iskusstvennyh organov*. 2013;4:92-97. DOI: 10.15825/1995-1191-2013-4-92-97 Russian. (Немец Е.А., Юнес Р.А., Худошин А.К., Габриэлян Н.И., Севастьянов В.И. Образование биопленок штаммами госпитальной флоры, выделенными из биологических субстратов пациентов, на поверхности материалов и изделий медицинского назначения. *Вестник трансплантологии и искусственных органов*. 2013;4:92-97. DOI: 10.15825/1995-1191-2013-4-92-97)
- Stalder T., Top E. Plasmid transfer in biofilms: a perspective on limitations and opportunities. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2016;2. pii: 16022. DOI: 10.1038/npjbiofilms.2016.22
- Soto S.M. Importance of biofilms in urinary tract infections: new therapeutic approaches. *Adv Biol*. 2014;2014:13. DOI: 10.1155/2014/5439794
- Grabe M., Bartoletti R., Bjerklund-Johansen T.E., et al. Urinary Tract Infections in Renal Insufficieny, Transplant Recipients, Diabetes Mellitus and Immunosuppression. Guideline of the European Association of Urology. *Izbrannye voprosy nefrologii*. 2015;6:4-14. Russian. (Grabe M., Bartoletti R., Bjerklund-Johansen T.E. и соавт. Инфекции мочевыводящих путей у пациентов с почечной недостаточностью, после трансплантации почки, сахарным диабетом и иммуносупрессией. Рекомендации Европейской Ассоциации Урологов. *Избранные вопросы нефрологии*. 2015;6:4-14.)
- Ferrières L., Hancock V., Klemm P. Specific selection for virulent urinary tract infections *Escherichia coli* strains during catheter-associated biofilm formation. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007;51(1):212-219. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2007.00296.x
- Russell J.C. Bacteria, biofilm and devices: the role of Phosphorylcholine (pc) materials. *J Endourol*. 2000;14(1):39-42. DOI: 10.1089/end.2000.14.39
- Ahearn D.G., Grade D.T. Effect of hydrogel/silver coating on in vitro adhesion to catheters of bacteria associated with urinary tract infections. *Curr Microbiol*. 2000;41:120-125. DOI: 10.1007/s002840010105
- Ogilvie A.T., Brisson B.A., Singh A., Weese J.S. *In vitro* evaluation of the impact of silver coating on *Escherichia coli* adherence to urinary catheters. *Can Vet J*. 2015;56(5):490-494.
- Roe D., Karandikar B., Bonn-Savage N., Gibbins B., Roulet J.B. Antimicrobial surface functionalization of plastic catheters by silver nanoparticles. *J Antimicrob Chemother*. 2008;61:869-876. DOI: 10.1093/jac/dkn034

10. Desai D.G., Liao K.S., Cevallos M.E., Trautner B.W. Silver or nitrofurazone impregnation of urinary catheters has a minimal effect on uropathogen adherence. *J Urol.* 2010;184(6):2565-2571. DOI: 10.1016/j.juro.2010.07.036
11. Johnson J.R., Johnston B., Kuskowski M.A. *In vitro* comparison of nitrofurazone- and silver alloy-coated Foley catheters for contact-dependent and diffusible inhibition of urinary tract infection-associated microorganisms. *Antimicrob Agent Chemother.* 2012;56(9):4969-4972. DOI: 10.1128/AAC.00733-12
12. Starčič Erjavec M., Petkovšek Ž., Kuznetsova M.V., Maslennikova I.L., Žgur-Bertok D. Strain ŽP – the first bacterial conjugation-based «kill»-«anti-kill» antimicrobial system. *Plasmid.* 2015;82:28-34. DOI: 10.1016/j.plasmid.2015.10.001
13. Kovalenko G.A., Chuenko T.V., Rudina N.A., et al. Preparation and Study of Nanoporous Carbon Carriers on a Ni/Sibunit. *Kinetika i kataliz.* 2009;50(4):618-626. Russian. (Коваленко Г.А., Чуенко Т.В., Рудина Н.А., и соавт. Приготовление и исследование нанопористых углеродных носителей на катализаторе Ni/сибунит. *Кинетика и катализ.* 2009;50(4):618-626.)
14. Merritt J.H., Kadouri D.E., O'Toole G.A. Growing and Analyzing Static Biofilm. *Curr Protoc Microbiol.* 2005;01:Unit-1B.1. DOI:10.1002/9780471729259.mc01b01s00
15. Guglielmetti S., Tamagnini I., Minuzzo M., et al. Study of the adhesion of *Bifidobacterium bifidum* MIMBb75 to human intestinal cell lines. *Curr Microbiol.* 2009;59(2):167-172. DOI: 10.1007/s00284-00-9415-x
16. Bucharin O.V., Gricenko V.A., Vyalkova A.A. Factors of uropathogenicity of bacteria: the role in a pathogenesis and the importance in a diagnostic of pyelonephritis. *Nefrologija i dializ.* 2001;3(4):469-475. Russian. (Бухарин О.В., Гриценко В.А., Вялкова А.А. Факторы уропатогенности бактерий: роль в патогенезе и значение в диагностике пиелонефрита. *Нефрология и диализ.* 2001;3(4):469-475).
17. Riedewald F. Bacterial adhesion to surfaces: the influence of surface roughness. *PDA J Pharm Sci Technol.* 2006;60:164-171.
18. Afinogenov G.E., Afinogeniva A.G., Postrelov N.A., Krasnova M.V. The influence of nanoclusters of silver on the formation of microbial biofilms on medical applications. *Dezinfekcionnoe delo.* 2008;3:48-50. Russian. (Афиногенов Г.Е., Афиногенова А.Г., Пострелов Н.А., Краснова М.В. Влияние нанокластеров серебра на формирование микробных биопленок на изделиях медицинского назначения. *Дезинфекционное дело.* 2008;3:48-50.)
19. Yamanaka M., Hara K., Kudo J. Bactericidal actions of a silver ion solution on *Escherichia coli*, studied by energy-filtering transmission electron microscopy and proteomic analysis. *AEM.* 2005;71(11):7589-7593. DOI: 10.1128/AEM.71.11.7589-7593.2005
20. Hetrick E.M., Schoenfisch M.H. Reducing implant-related infections: active release strategies. *Chem Soc Rev.* 2006;5:780-789. DOI: 10.1039/b515219b
21. Feng Q.L., Wu J., Chen G.Q., et al. A mechanistic study of antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J Biomed Mater Res.* 2000;52:662-668. DOI: 10.1002/1097-4636(20001215)52:43.O.CO;2-3