



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредители:

Синопальников А.И.; Пискунов Г.Г.; Козлов Р.С.; Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ)

Главный редактор:
Синопальников А.И.

Адрес редакции:

214019, Смоленская обл., г. Смоленск, ул. Кирова, д. 46А

Эл. почта: info@cmac-journal.ru

Адрес для корреспонденции:

214019, г. Смоленск, а/я 5.

Тел./факс: +7(4812)45-06-02

Издатель МАКМАХ:

214019, г. Смоленск,

ул. Кирова 46А. www.iacsmac.ru

Адрес типографии:

214020, Россия, г. Смоленск,

ул. Смольянинова, д. 1

Электронная версия журнала:

https://cmac-journal.ru

Подписка на сайте издателя:

https://service.iacsmac.ru

Журнал зарегистрирован Федеральной службой по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций (Роскомнадзор).

Запись в реестре зарегистрированных СМИ: ПИ № ФС 77 – 86269 от 27.11.2023

Не распространяется через предпринятия связи Тираж 3000 экз.

Свободная цена

Дата выхода – 19.05.2025

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 №436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2024.

Содержание

Болезни и возбудители

Миронов К.О., Гапонова И.И., Корчагин В.И., Михайлова Ю.В., Шеленков А.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Платонов А.Е., Козлов Р.С., Акимкин В.Г.

396 Определение серотипов *Streptococcus pneumoniae*, вызывающих инвазивные и неинвазивные формы инфекций, с использованием высокопроизводительного секвенирования

Бубман Л.И., Тополянская С.В., Рачина С.А., Гладких М.А., Усова Т.В., Карпов В.В., Молочников А.Ю., Нечаев А.И., Хан С.О., Эмомадов А.М., Захаров Н.С., Харченко Е.И., Лыткина К.А., Марченко И.П., Буриев И.М., Мелконян Г.Г.

401 Микробный пейзаж при исследовании ран у пациентов с боевыми травмами конечностей

Васильева И.А., Панова А.Е., Грачева А.Н., Байракова А.Л., Казюлина А.А., Елисеев П.И., Самойлова А.Г.

411 Видовое разнообразие нетуберкулезных микобактерий, выделенных у пациентов ФГБУ «НМИЦ ФПИ» Минздрава России в «доковидный» период и во время пандемии COVID-19

Максимова Е.А., Кузьменков А.Ю., Лямин А.В., Козлов А.В., Кондратьева Е.И., Кондратенко О.В.

417 Возможности использования онлайн-регистратора AMRcf у пациентов с муковисцидозом

Арсеньева А.А., Лямин А.В., Мигачёва Н.Б., Орлов Е.В., Алексеев Д.В.

426 Микрoэкологические аспекты взаимосвязи кожной микробиоты и псориаза

Антимикробные препараты

Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В., Козлов Р.С.

439 Разработка критериев интерпретации и оценки качества результатов определения чувствительности представителей порядка Enterobacterales и *Pseudomonas aeruginosa* к цефепиму-сульбактаму

Гамаюнов Д.Ю., Калягин А.Н., Орлова Г.М., Балабина Н.М., Синькова Г.М., Синьков А.В.

452 Применение фторхинолонов в лечении внебольничной пневмонии и их кардиотоксические эффекты

Антибиотикорезистентность

Васильева И.А., Панова А.Е., Тинькова В.В., Грачева А.Н., Казюлина А.А., Елисеев П.И., Байракова А.Л., Самойлова А.Г.

462 Антибиотикорезистентность *Mycobacterium avium* в период пандемии COVID-19

Опыт работы

Косилова И.С., Домотенко Л.В., Храмов М.В.

470 Организация производства отечественного бульона Мюллера-Хинтон

Комягина Т.М., Тряпочкина А.С., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Горина Ю.В., Симонова О.И.

480 Популяционная структура и молекулярно-генетическая характеристика штаммов *Streptococcus pneumoniae*, выделенных от детей с хронической бронхолегочной патологией

Козлов Р.С., Тапальский Д.В., Карпова Е.В., Петровская Т.А., Куркова А.А.

487 Микробиологическая активность бовгиалуронидазы азоксимера в отношении микробных биопленок

Новикова И.Е., Садеева З.З., Самойлова Е.А., Карасева О.В., Янюшкина О.Г., Лазарева А.В.

496 Характеристика парных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, полученных от детей

Белова И.В., Широкова И.Ю., Точилина А.Г., Ковалишена О.В., Белянина Н.А., Тулупов А.А., Молодцова С.Б., Селиверстов А.Н., Кропотов В.С., Соловьева И.В.

505 Исследование антимикробного действия супернатанта *Lactiplantibacillus plantarum* 8P-A3 на госпитальные штаммы *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*

Видманова М.В., Жестков А.В., Лямин А.В., Исмагуллин Д.Д., Шеститко Е.Ю., Решетникова В.П.

514 Микробиологическое исследование при коклюше и влияние состава питательной среды на белковое профилирование *Bordetella* spp.

Немченко У.М., Ситникова К.О., Григорова Е.В., Сухорева М.В., Белькова Н.Л., Чемезова Н.Н., Савилов Е.Д.

522 Формирование биопленок клиническими изолятами условно-патогенных микроорганизмов под влиянием дезинфицирующих средств

Описание клинических случаев

Хостелиди С.Н.

529 Опыт применения изавуконазола для лечения мукормикоза: описание клинического случая и анализ данных регистра

DOI: 10.36488/cmasc.2024.4.522-528

Оригинальная статья

Формирование биопленок клиническими изолятами условно-патогенных микроорганизмов под влиянием дезинфицирующих средств

Немченко У.М.¹, Ситникова К.О.¹, Григорова Е.В.¹, Сухорева М.В.², Белькова Н.Л.¹, Чемезова Н.Н.^{1,3}, Савилов Е.Д.¹

¹ ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», Иркутск, Россия

² ОГАУЗ «Городская Ивано-Матренинская детская клиническая больница», Иркутск, Россия

³ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, Иркутск, Россия

Контактный адрес:

Ульяна Михайловна Немченко
Эл. почта: umnemch@mail.ru

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, биопленки, дезинфицирующие средства.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Оценка способности клинических изолятов условно-патогенных микроорганизмов к накоплению биомассы биопленки под влиянием композиционных дезинфицирующих средств.

Материалы и методы. В исследование были включены 53 штамма (49 штаммов *K. pneumoniae*, 4 штамма *P. aeruginosa*), полученные из двух многопрофильных детских стационаров городского и регионального уровней. Материал для исследования собирали из различных локусов пациентов, с медицинских изделий и объектов окружающей среды. Для оценки ответа биопленок (БП) клинических изолятов на воздействие дезинфицирующих средств (ДС) были использованы три композиционных ДС: № 1 – кислородосодержащее, № 2 – содержащее четвертичные аммониевые соединения и альдегиды, № 3 – хлорсодержащее.

Результаты. Все исследуемые штаммы характеризовались способностью к накоплению биомассы БП различной степени выраженности: низкой – 15 (28,4%), умеренной – 24 (45,2%), высокой – 14 (26,4%). Под воздействием ДС на начальном этапе адгезии биомасса БП снижалась у более чем 70% изолятов, при этом наибольшую эффективность показало хлорсодержащее ДС (№ 3). Суточные БП были устойчивы к воздействию ДС № 1 и ДС № 3, накопление биомассы БП снижалось только при использовании ДС № 2, которое содержало комплекс четвертичных аммониевых соединений и альдегидов. Изоляты, изначально обладающие повышенной способностью к накоплению биомассы БП, были более устойчивы к воздействию ДС на всех стадиях формирования БП.

Выводы. Необходимо проводить углубленный анализ эффективности воздействия биоцидов на биопленочные бактерии для профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

Original Article

Biofilm formation of clinical isolates of opportunistic microorganisms under the influence of disinfectants

Nemchenko U.M.¹, Sitnikova K.O.¹, Grigorova E.V.¹, Sukhoreva M.V.², Belkova N.L.¹, Chemezova N.N.^{1,3}, Savilov E.D.¹

¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russia

² City Ivano-Matreninsk Children's Clinical Hospital, Irkutsk, Russia

³ Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Irkutsk, Russia

Contacts:

Uliana M. Nemchenko
E-mail: umnemch@mail.ru

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, biofilms, disinfectants.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

Objective. To assess the ability of clinical isolates of opportunistic microorganisms to accumulate biofilm biomass under the influence of composite disinfectants.

Materials and methods. The study included 53 strains (49 – *K. pneumoniae*, 4 – *P. aeruginosa*) obtained from two multidisciplinary children's hospitals at the city and regional levels. Specimens were collected from different loci of patients, medical devices, and environmental objects. To assess the reaction of biofilms (BF) of clinical isolates to the effects of disinfectants (DIs), three composite DIs were used: No. 1 – oxygen-containing, No. 2 – containing quaternary ammonium compounds and aldehydes, No. 3 – chlorine-containing.

Results. All the studied strains were characterized by their ability to accumulate BF biomass of various degree: low – 15 (28.4%), moderate – 24 (45.2%), and high – 14 (26.4%). When exposed to DIs at the initial stage of adhesion, biomass of BF decreased in more than 70% of isolates, with chlorine-containing DI showing the greatest efficiency (No. 3). 24-hour BFs were resistant to the effects of DI No. 1 and DI No. 3; accumulation of BF biomass decreased only when using DI No. 2, which contained a complex of quaternary ammonium compounds and aldehydes. Isolates that initially had an increased ability to accumulate BF biomass were more resistant to the DIs effects at all stages of biofilm formation.

Conclusions. There is a need for further in-depth evaluation of the biocides effects on biofilm bacteria to prevent healthcare-associated infections.

Немченко У.М. и соавт.

Введение

В медицинской литературе достаточно давно устоялся термин «условно-патогенные микроорганизмы» (УПМ), под которым подразумевают широко распространенную группу микроорганизмов с низкой степенью патогенности для человека или проявляющих свои патогенные свойства только при определенных условиях, например при снижении иммунного статуса организма [1]. Известно, что грамотрицательные представители УПМ в совокупности являются наиболее частыми возбудителями нозокомиальных инфекций в России [2, 3]. УПМ присущ ряд биологических свойств, отличающих их от истинных возбудителей инфекционных заболеваний, к которым в частности следует отнести их устойчивость фактически ко всем доступным современным антимикробным препаратам и различным биоцидам. Эта особенность наиболее характерна для бактериальной микрофлоры, находящейся в составе биопленок (БП). В этом состоянии микроорганизмы могут быть устойчивыми к антимикробным препаратам в концентрации, в 100 и более раз превышающей минимальные ингибирующие концентрации для отдельной бактериальной клетки, находящейся в планктонном состоянии [1].

Одним из основных возбудителей инфекций, относящихся к УПМ и связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), являются бактерии *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, клетки которых способны формировать БП на биотических и абиотических поверхностях. По данным литературы, практически все клинические изоляты *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, выделенные из мочи, крови, мокроты, ран, обладают способностью к биопленкообразованию *in vitro* [4, 5]. Попадая из организма пациента в больничную среду, биопленочные микроорганизмы способны эффективно конкурировать с другими (в том числе и патогенными) микроорганизмами, создавая дополнительный резервуар госпитальных штаммов [4, 6, 7].

С учетом способности микроорганизмов формировать БП, важное значение приобретает оценка эффективности действия дезинфицирующих средств (ДС) на клетки, находящиеся прежде всего в виде биопленочных консорциумов [8]. ДС представляют собой индивидуальные химические соединения или композиционные составы, включающие несколько действующих веществ, а также различные функциональные компоненты: ингибиторы коррозии, красители, отдушки, стабилизаторы, загустители и др. [9]. В настоящее время в лечебно-профилактических учреждениях в основном применяются хлорсодержащие ДС, с действующим веществом в виде активного хлора. Они обладают широким спектром антимикробного действия, но раздражают верхние дыхательные пути и слизистые глаз, имеют стойкий запах и корродируют металлы. Широко применяются и кислородосодержащие ДС, которые обладают аналогичным спектром антимикробного действия, не имеют запаха, но корродируют металлы. Отличительными особенностями ДС, содержащих четвертичные аммониевые со-

единения (ЧАС), являются более узкий спектр антимикробного действия, моющее действие, отсутствие запаха и коррозионного эффекта. Некоторые из них представляют собой комбинации ЧАС с глутаровым альдегидом, спиртом, поверхностно-активными веществами, что расширяет спектр их антибактериальной активности [8, 9].

Одним из неблагоприятных факторов, участвующих в распространении внутрибольничных инфекций, является неправильное использование ДС. Поскольку ни одно из них не является универсальным, необходимы исследования для определения антимикробной активности различных ДС для выбора максимально эффективного [10, 11].

Цель исследования – оценка способности клинических изолятов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* к накоплению биомассы биопленки под влиянием композиционных дезинфицирующих средств.

Материалы и методы

Были изучены 49 штаммов *K. pneumoniae* и 4 штамма *P. aeruginosa*, полученные из двух многопрофильных детских стационаров городского (Городская Иваново-Матренинская детская клиническая больница, ГИМДКБ) и регионального уровней (Иркутская областная детская клиническая больница, ИОДКБ). Материал для исследования собирали из различных локусов пациентов, с медицинских изделий и объектов окружающей среды: кровь (5 образцов), моча (16), мокрота (4), слизистая зева (9), смывы трахеобронхиального дерева (2), отделяемое брюшной полости (2), отделяемое раны (2) и свища (1); медицинские изделия: эндотрахеальная трубка (6), центральный венозный катетер (3), трахеостома (2); смыв с объекта окружающей среды (1). Ранее нами было показано, что все штаммы, включенные в исследование, обладали множественной устойчивостью к антимикробным препаратам [12]. Идентификацию выделенных культур осуществляли бактериологическим методом с учетом морфологических, культуральных, тинкториальных и биохимических свойств и подтверждали методом MALDI-TOF прямого белкового профилирования неспорообразующих микроорганизмов. Масс-спектрометрический анализ проводили на приборе ultrafleXtreme (Bruker Daltonics, Германия) [13].

Для оценки ответа БП клинических изолятов на воздействие ДС были использованы ДС с разными активными компонентами, применявшиеся на момент исследования в стационарах. Группа ДС, действующие компоненты и концентрации препаратов представлены в Таблице 1. В экспериментах применяли минимальные концентрации, рекомендованные производителем для дезинфекции поверхностей при бактериальных инфекциях.

Подготовку культур для экспериментов, культивирование в 96-луночном стерильном плоскодонном пластиковом иммунологическом планшете, окраску БП,

Таблица 1. ДС, используемые в эксперименте

Маркировка ДС	Группа ДС	Действующие компоненты	Концентрации согласно инструкции
№ 1	Кислородосодержащее	Перборат натрия моногидрат – 50%, тетраацетилэтилендиамин – 25% (ТАЭД) и другие инертные компоненты. Действующее вещество в рабочем растворе – надуксусная кислота	0,5%
№ 2	Четвертичные аммониевые соединения (ЧАС) и альдегиды	Дидецилдиметиламмоний хлорид – 6,0%, дидецилдиметиламмоний бромид – 2,0%, алкилдиметилбензиламмоний хлорид – 16,0%, глутаровый альдегид – 7,0%, глиоксаль – 6,0%, неионогенные ПАВ. Действующее вещество в рабочем растворе – ЧАС (суммарно), глутаровый альдегид, глиоксаль	0,1%
№ 3	Хлорсодержащее	Натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты с содержанием активного хлора 44,2%, специальные функциональные добавки. Действующее вещество в рабочем растворе – активный хлор	0,1%

измерение оптической плотности (ОП) проводили по описанным ранее методикам [14–18].

Оценка влияния ДС на накопление биомассы БП при воздействии на начальном этапе адгезии

В лунки планшета вносили 150 мкл бактериальной взвеси (1×10^6 КОЕ/мл). На начальном этапе адгезии клеток к пластику в лунки вносили по 50 мкл ДС в заданной концентрации (в каждой концентрации не менее четырех повторов). Контролем биопленкообразования служили лунки, в которых клетки не подвергали влиянию ДС. Отрицательным контролем служили лунки с 150 мкл питательного бульона без бактерий. Длительность воздействия ДС на БП как на стадии адгезии, так и на суточные БП, согласно инструкциям по применению, составила 30 мин. Планшеты инкубировали 24 ч. при 37°C, затем промывали, высушивали и окрашивали 1% раствором генцианвиолета с последующей спиртовой экстракцией. Биомассу сформированных БП оценивали по оптической плотности (ОП) полученных экстрактов красителя при 420 нм. Более подробно методика была описана ранее [14, 15].

Оценка влияния ДС на накопление биомассы БП при воздействии на суточную БП

Суточные БП формировали изложенным выше способом в течение 24 ч., используя только взвесь бактерий. Через 24 ч. инкубации удаляли планктонные клетки, трехкратно промывали стерильной дистиллированной водой и вносили в каждую лунку (в контрольные – питательный бульон) требуемые концентрации ДС. Далее эксперименты проводили по описанной ранее методике [14, 15].

Для пересчета единиц ОП в массу микробной БП в мкг на одну лунку 96-луночного полистиролового плоскодонного планшета использовали формулу, полученную путем сопоставления ОП элюатов контрольных и опытных проб с массой высушенной неокрашенной БП: $X = 226,28 \times [E_{\text{оп}} \text{ пробы} - E_{\text{оп}} \text{ контроля}]^{1,2755}$, где X – масса БП; $E_{\text{оп}} \text{ пробы}$ – ОП спиртового экстракта окра-

Таблица 2. Способность клинических изолятов УПМ к накоплению биомассы БП

Способность микроорганизма к накоплению биомассы БП	Средняя биомасса, мкг/лунка
отсутствует	0
низкая	от 0 до 9
умеренная	от 9 до 28
высокая	более 28

шенной БП в эксперименте; $E_{\text{оп}} \text{ контроля}$ – ОП спиртового экстракта окрашенного отрицательного контроля [19, 20]. Способность УПМ к накоплению биомассы БП определяли по среднему значению и оценивали при воздействии ДС на начальном этапе адгезии и при воздействии ДС на суточную БП. Интерпретация результатов исследования представлена в Таблице 2.

Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием критерия Манна-Уитни и непараметрического критерия χ^2 , а также с помощью формул, имеющихся в пакете программ «MS Excel 2007 for Windows 7». Уровень значимости при проверке статистических гипотез (p) принят равным 0,05.

Работа выполнена в рамках государственной темы № 121022500179-0 с использованием оборудования ЦКП «Центр разработки прогрессивных персонализированных технологий здоровья» и УНУ «Коллекция микробиоты человека Иркутской области» ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ (Иркутск).

Результаты

Протестированные изоляты характеризовались способностью к накоплению биомассы БП различной степени выраженности: низкой – 15 (28,4%), умеренной – 24 (45,2%), сильной – 14 (26,4%) (Таблица 3).

На начальном этапе адгезии биомасса БП значительно снижалась у более чем 70% изолятов, чему в большей или меньшей степени способствовало воздействие

Таблица 3. Способность клинических изолятов УПМ к накоплению биомассы БП при воздействии композиционных ДС на разных стадиях ее формирования

Стадия воздействия ДС	ДС	Способность микроорганизма к накоплению биомассы БП, (абс/%)		
		низкая	умеренная	высокая
Контроль		15/28,4	24/45,2	14/26,4
начальный этап адгезии	№1*	38/71,7	13/24,5	2/3,8
	№2*	50/94,3	1/1,9	2/3,8
	№3*	45/84,9	5/9,4	3/5,7
суточная БП	№1	26/49,1	15/28,3	12/22,6
	№2	39/73,6	7/13,2	7/13,2
	№3	12/22,6	27/51	14/26,4

* Биомасса БП значительно ниже, чем до воздействия ДС ($p < 0,01$).

всех ДС. Значение U-критерия Манна-Уитни находилось в зоне значимости: для ДС № 1 $U_{\text{эмп}} = 704$, для ДС № 2 $U_{\text{эмп}} = 374,5$, для ДС № 3 $U_{\text{эмп}} = 376,5$ ($p < 0,01$ при сравнении биомассы БП до и после воздействия ДС) (Таблица 3). Стоит также отметить существенное увеличение доли изолятов с низкой биомассой: χ^2 при воздействии ДС № 1 = 17,22, ДС № 2 = 44,73, ДС № 3 = 30,99 ($p < 0,01$ при сравнении количества изолятов с низкой биомассой до и после воздействия ДС).

Сформированные БП были менее чувствительны к воздействию ДС (Таблица 3). Суточная биомасса клинических изолятов УПМ не изменялась под воздействием ДС в более 50% случаев для ДС № 1 и ДС № 3: $U_{\text{эмп}} = 1208$ для ДС №1 и $U_{\text{эмп}} = 1291,5$ для ДС № 3 ($p > 0,05$ при сравнении биомассы БП до и после воздействия ДС), доля изолятов с низкой биомассой также не различалась для ДС № 1 и ДС № 3 (χ^2 при воздействии ДС №1 = 3,6, ДС № 3 = 0,83, $p > 0,05$). На биомассу суточных БП воздействовало только ДС №2 – $U_{\text{эмп}} = 721,5$; доля изолятов с низкой биомассой была значительно ниже (χ^2 при воздействии ДС № 2 = 18,87, $p < 0,01$).

При сравнении влияния композиционного состава ДС на биопленкообразование замедление начального этапа адгезии было более выражено при воздействии ДС № 3, содержащего активный хлор ($U_{\text{эмп}} = 643,5$ при сравнении ДС №3 и ДС №1; $U_{\text{эмп}} = 1009$ при сравнении ДС № 3 и ДС № 2, $p < 0,01$).

Суточные БП были более чувствительны к воздействию ДС № 2, содержащего ЧАС и альдегиды в качестве активного компонента ($U_{\text{эмп}} = 1035$ при сравнении ДС № 2 и ДС № 1; $U_{\text{эмп}} = 712,5$ при сравнении ДС № 2 и ДС № 1, $p < 0,01$).

Следует также отметить, что изоляты с умеренной и высокой биомассой БП на начальном этапе адгезии не снижали биомассу под воздействием ДС № 1 в 36,8% случаев, ДС № 3 в 18,4% случаев, ДС № 2 в 2,6% случаев. В суточной БП оставались устойчивыми к воздействию ДС № 3 94,7% изолятов, к ДС № 1 – 63,2% изолятов, к ДС № 2 – 28,9% изолятов с умеренной и высокой биомассой БП.

Обсуждение

Одним из важнейших направлений эпидемиологического надзора за распространением биопленочных инфекций в стационарах различного профиля является оценка отношений УПМ к ДС, используемым в повседневной работе лечебных учреждений. Развитие устойчивости к ДС и антисептикам у госпитальных штаммов микроорганизмов снижает эффективность профилактических и лечебных мероприятий в стационарах и является важным фактором, способствующим распространению нозокомиальных инфекций [9, 21].

В отличие от антибиотиков, которые воздействуют на определенный процесс, молекулы ДС, как правило, имеют более одного целевого участка [22]. Например, ЧАС воздействуют на цитоплазматическую мембрану в качестве основной мишени, вызывая ее разрушение и утечку внутриклеточных компонентов [23]. ДС на основе надуксусной кислоты проникают внутрь клеток и взаимодействуют с компонентами клеток, такими как белки, рибосомы, нуклеиновые кислоты и ферменты, вызывая гибель клеток [24]. Хлорсодержащие ДС, взаимодействуя с клеточной стенкой микроорганизмов, адсорбируются оболочкой клетки и проникают внутрь путем диффузии, вызывая коагуляцию белков, ферментов и нарушая обмен веществ [24].

Проведенные за последние годы исследования показывают, что клетки, живущие в состоянии БП, могут быть значительно устойчивее к ДС, чем их планктонные аналоги [25, 26]. Таким образом, коммерческие ДС, обладающие подтвержденной эффективностью в отношении планктонных клеток, не всегда способны уничтожить микробные клетки, находящиеся в биопленочной форме.

Это положение побудило в настоящем исследовании оценить влияние композиционных ДС на накопление биомассы БП. Нами обнаружено, что большая часть (71,6%) протестированных клинических изолятов УПМ обладали повышенной способностью накапливать биомассу БП. В экспериментах показано, что используемые биоциды на начальном этапе адгезии БП снижали биомассу БП у более 70% изолятов, проникая в матрикс и

препятствуя размножению клеток. При этом наиболее эффективно этап адгезии замедляло хлорсодержащее ДС № 3, воздействуя на клеточную стенку делящихся бактерий.

Проведенные нами ранее исследования показали, что клинически значимые штаммы УПМ обладают продуктивным и быстрым ростом клеток и формируют многослойные биопленочные консорциумы в течение 20-24 ч. культивирования [27]. С учетом этих данных, мы оценили воздействие ДС на суточные, уже сформированные биопленки. В экспериментах установлено, что ДС слабо проникали в эти структуры и не препятствовали размножению клеток. Следует отметить, что биомасса БП сохранялась или даже увеличивалась – доля изолятов с умеренной и высокой биомассой была значимо выше после воздействия кислородосодержащего и хлорсодержащего ДС (более 50%).

Можно полагать, что устойчивость суточных БП связана с участием матрикса БП в удержании биоцидов. Предложено несколько гипотез о механизмах взаимодействия антимикробных препаратов с матриксом БП: ограничение диффузии антимикробных веществ в БП за счет электростатических и гидрофобных взаимодействий; дезактивация биоцидов путем накопления в матриксе разрушающих ферментов; снижение скорости роста бактериальных клеток в глубоком слое БП и уменьшение поглощения антимикробных препаратов [22, 28].

Исследования показывают, что эффективность ДС зависит от способности уничтожать сформированные БП, что более сложно, чем предотвратить образование БП. Для устранения зрелой БП недостаточно применения биоцидов, необходимо разрушить и/или удалить экосистему матрикса, содержащего микроорганизмы [29, 30].

На стадии суточной БП из рассмотренных ДС наиболее эффективным был препарат, содержащий комплекс ЧАС и альдегидов, что согласуется с исследованиями других авторов, показавших, что хлорсодержащие ДС были менее эффективны против устранения БП [30], а

ДС, относящиеся к группе окислителей, могут снижать активность в присутствии органических веществ, накапливаемых в матриксе БП [9, 30]. Исследования, проведенные Детушевой Е. и соавт. (2021), показали, что рекомендуемые производителями концентрации ДС не оказывают действия на микроорганизмы в составе БП исследуемых штаммов бактерий, и предлагают использовать более высокие концентрации по действующему веществу [31]. Указанные авторы установили, что ДС, содержащее смесь ЧАС, глутаровый альдегид, глиоксаль способно подавлять рост БП *K. pneumoniae*, а ДС группы окислителей разрушало БП *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* [31]. Различия в действии одних и тех же классов ДС на клинические изоляты, вероятно, связаны с региональными особенностями возбудителей ИСМП, что подтверждает необходимость углубленного анализа эффективности воздействия биоцидов на биопленочные бактерии [31].

Заключение

Таким образом, нами показано, что возбудители ИСМП, к которым относятся прежде всего условно-патогенные микроорганизмы, способны образовывать БП *in vitro*. Изоляты, изначально обладающие повышенной способностью формировать БП, были более устойчивы к воздействию ДС на всех стадиях ее развития. На начальном этапе адгезии БП наибольшую эффективность показало хлорсодержащее ДС, а на суточные БП наибольшее влияние оказывало ДС с ЧАС и альдегидами, что может быть рекомендовано для соответствующего применения.

Становится очевидным, что для улучшения диагностики и лечения инфекций, ассоциированных с БП, необходимо определять не только эффективность антибиотиков, но и разрабатывать способы как предупреждения образования, так и разрушения БП как одного из механизмов, позволяющих УПМ «уходить» от воздействия ДС и создавать дополнительный резервуар госпитальных штаммов.

Литература

1. Savilov E.D. General epidemiology: a course of lectures. M.: MIA; 2020. 472 p. Russian. (Савилов Е.Д. Общая эпидемиология: курс лекций. М.: МИА; 2020. 472 с.)
2. Sukhorukova M.V., Eydel'shteyn M.V., Ivanchik N.V., Skleenova E.Yu., Shaydullina E.R., Azyzov I.S., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacterales isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON 2015-2016. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya*. 2019;21(2):147-159. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В., Склеенова Е.Ю., Шайдуллина Э.Р., Азизов И.С. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacterales в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН 2015-2016. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(2):147-159.) DOI: 10.36488/стас.2019.2.147-159
3. Eydel'shteyn M.V., Shek E.A., Sukhorukova M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Shaydullina E.R. Antimicrobial resistance, carbapenemase production and genotypes of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON 2015-2016». *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya*. 2019;21(2):160-170. Russian. (Эйдельштейн М.В., Шек Е.А., Сухорукова М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Шайдуллина Э.Р. и соавт. Антибиотикорезистентность, продукция карбапенем

- маз и генотипы нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015-2016». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):160-170.) DOI: 10.36488/смас.2019.2.160-170
4. Osipova E.V., Shipitsyna I.V. Informational characteristics of microbial biofilms formed by clinical strains of *Klebsiella pneumoniae* in vitro on the surface of the cover glass. Geniy ortopedii. 2018;24(4):478-481. Russian. (Осипова Е.В., Шипицына И.В. Информационная характеристика микробных биопленок, формируемых in vitro на поверхности покровного стекла клиническими штаммами *Klebsiella pneumoniae*. Гений ортопедии. 2018;24(4):478-481.) DOI: 10.18019/1028-4427-2018-24-4-478-481
 5. Bakht M., Alizadeh S.A., Rahimi S., Kazemzadeh Anari R., Rostamani M., Javadi A., et al. Phenotype and genetic determination of resistance to common disinfectants among biofilm-producing and non-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains from clinical specimens in Iran. BMC Microbiol. 2022;22(1):124. DOI: 10.1186/s12866-022-02524-y
 6. Chezganova E.A., Efimova O.S., Sakharova V.M., Efimova A.R., Sozinov S.A., Ismagilov Z.R., Brusina E.B. A novel source of hospital microorganisms in healthcare settings. Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. 2021;98(3):266-275. Russian. (Чезганова Е.А., Ефимова О.С., Сахарова В.М., Ефимова А.Р., Созинов С.А., Исмагилов З.Р., Брусина Е.Б. Дополнительный резервуар госпитальных микроорганизмов в медицинских организациях. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2021;98(3):266-275.) DOI: 10.36233/0372-9311-120
 7. Belyaeva E.V., Ermolina G.B., Boriskina E.V., Kryazhev D.V., Shkurkina I.S. Monitoring of biofilm-forming ability in coagulase-negative staphylococci circulating in a pediatric hospital. Meditsinskiy al'manakh. 2018;4(55):26-30. Russian. (Беляева Е.В., Ермолина Г.Б., Борискина Е.В., Кряжев Д.В., Шкуркина И.С. Мониторинг биопленкообразующей способности у циркулирующих в детском стационаре коагулазонегативных стафилококков. Медицинский альманах. 2018;4(55):26-30.)
 8. Bel'kova N.L., Grigorova E.V., Noskova O.A., Markova Yu.A., Nemchenko U.M., Voropaeva N.M., et al. Biofilms and their role in the development of healthcare-associated infections: Uchebnoe posobie. Irkutsk: RIO IGMAPO; 2020. 76 p. Russian. (Белькова Н.Л., Григорова Е.В., Носкова О.А., Маркова Ю.А., Немченко У.М., Воропаева Н.М., и соавт. Биопленки и их роль в развитии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи: Учебное пособие. Иркутск: RIO IGMAPO; 2020. 76 с.)
 9. Federal Clinical guidelines for the selection of chemical disinfection and sterilization products for use in medical organizations. M., 2015. 58 p. Russian. (Федеральные клинические рекомендации по выбору химических средств дезинфекции и стерилизации для использования в медицинских организациях. М., 2015. 58 с.)
 10. de Abreu P.M., Farias P.G., Paiva G.S., Almeida A.M., Morais P.V. Persistence of microbial communities including *Pseudomonas aeruginosa* in a hospital environment: a potential health hazard. BMC Microbiol. 2014;14(1):1-10. DOI: 10.1186/1471-2180-14-118
 11. Firesbhat A., Tigabu A., Tegene B., Gelaw B. Bacterial profile of high-touch surfaces, leftover drugs and antiseptics together with their antimicrobial susceptibility patterns at University of Gondar Comprehensive Specialized Hospital Northwest Ethiopia. BMC Microbiol. 2021;21(1):1-13. DOI: 10.1186/s12866-021-02378-w
 12. Noskova O.A., Savilov E.D., Chemezova N.N., Belkova N.L. Antibiotic resistance of pathogens of generalized purulent septic infections in children. Epidemiology and vaccinal prevention. 2020;19(6):56-61. Russian. (Носкова О.А., Савилов Е.Д., Чemezова Н.Н., Белькова Н.Л. Антибиотикорезистентность возбудителей генерализованных гнойно-септических инфекций у детей. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2020;19(6):56-61.) DOI: 10.31631/2073-3046-2020-19-6-56-61
 13. Voropaeva N.M., Bel'kova N.L., Nemchenko U.M., Grigorova E.V., Kungurtseva E.A., Noskova O.A., et al. Identification of pathogens of infectious diseases using bacteriological diagnostics and MALDI Biotyper together. Acta biomedica scientifica. 2020;5(6):88-94. Russian. (Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Немченко У.М., Григорова Е.В., Кунгурцева Е.А., Носкова О.А. и соавт. Идентификация возбудителей инфекционных заболеваний при совместном использовании бактериологической диагностики и MALDI Biotyper. Acta biomedica scientifica. 2020;5(6):88-94.) DOI: 10.29413/ABS.2020-5.6.10
 14. Nemchenko U.M., Kungurtseva E.A., Grigorova E.V., Bel'kova N.L., Markova Yu.A., Noskova O.A., et al. Modeling of bacterial biofilms and assessment of the sensitivity of infectious agents associated with the provision of medical care to the disinfectant Sekusept Aktiv. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2020;65(10):652-658. Russian. (Немченко У.М., Кунгурцева Е.А., Григорова Е.В., Белькова Н.Л., Маркова Ю.А., Носкова О.А. и соавт. Моделирование бактериальных биопленок и оценка чувствительности возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к дезинфицирующему средству Секусепт актив. Клиническая лабораторная диагностика. 2020;65(10):652-658.) DOI: 10.18821/0869-2084-2020-65-10-652-658
 15. Grigorova E.V., Nemchenko U.M., Voropaeva N.M., Belkova N.L., Noskova O.A., Savilov E.D. Effect of disinfectants with different active ingredients on biofilm formation in *Pseudomonas aeruginosa*. Bulletin experimental biology and medicine. 2021;171(6):733-738. Russian. (Григорова Е.В., Немченко У.М., Воропаева Н.М., Белькова Н.Л., Носкова О.А., Савилов Е.Д. Биопленкообразование под воздействием дезинфицирующих средств с разным активным компонентом у *Pseudomonas aeruginosa*. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2021;171(6):733-738.) DOI: 10.47056/0365-9615-2021-171-6-733-738

16. Christensen G.D., Simpson W.A., Younger J.J., Baddour L.M., Barrett F.F., Melton D.M., et al. Adherence of coagulase-negative staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of staphylococci to medical devices. *J Clin Microbiol.* 1985;22:996-1006. DOI: 10.1128/jcm.22.6.996-1006.1985
17. O'Toole G.A. Microtiter dish biofilm formation assay. *J Vis Exp.* 2011;47:2437. DOI: 10.3791/2437
18. Plyuta V.A., Andreenko Yu.V., Kuznetsov A.E., Khmel' I.A. Formation of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilms in the presence of hydrogen peroxide; the effect of the *aiaA* gene. *Molekulyar genetics, mikrobiology and virology.* 2013;28(4):141-146. Russian. (Плюта В.А., Андреевко Ю.В., Кузнецов А.Е., Хмель И.А. Образование биоплёнок *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 в присутствии перекиси водорода; влияние гена *aiaA*. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2013;4:10-14.) DOI: 10.3103/S089141681304006X
19. Okulich V.K., Kabanova A.A., Plotnikov F.V. Microbial biofilms in clinical microbiology and antibiotic therapy. Vitebsk: VGMU, 2017. 300 p. Russian. (Окулич В.К., Кабанова А.А., Плотников Ф.В. Микробные биопленки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии. Витебск: ВГМУ, 2017. 300 с.)
20. Zemtsova A.V., Averchenkova A.A., Kovalev E.V., Zan'ko Yu.V., Arestova I.M. Influence of biofilm cultures of microorganisms – genital infections agents on the efficiency of antibacterial therapy. Protection of motherhood and childhood. 2019;1(33):5-10. Russian. (Земцова А.В., Аверченкова А.А., Ковалёв Е.В., Занько Ю.В., Арестова И.М. Влияние биопленочных культур микроорганизмов – возбудителей генитальных инфекций на эффективность антибактериальной терапии. Охрана материнства и детства. 2019;1(33):5-10.)
21. Dokhtukaeva A.M., Usaeva Ya.S., Ataeva A.S. Disinfectants against pathogenic bacteria. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference dedicated to the 30th Anniversary of the Medical Institute of the Chechen State University. Grozny: Chechen State University Publishing House. 2020. 387 p. Russian. (Дохтукаева А.М., Усаева Я.С., Атаева А.С. Дезинфицирующие средства против патогенных бактерий. Сборник материалов международной научно-практической конференции, посвященной 30-летию юбилею Медицинского института ФГБОУ ВО «Чеченский государственный университет». Грозный: Издательство Чеченского государственного университета. 2020. 387 с.)
22. Abdallah M., Benoliel C., Drider D., Dhulster P. Biofilm formation and persistence on abiotic surfaces in the context of food and medical environments. *Arch Microbiol.* 2014;196:453-472. DOI: 10.1007/s00203-014-0983-1
23. Ioannou C.J., Hanlon G.W., Denyer S.P. Action of disinfectant quaternary ammonium compounds against *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007;51:296-306. DOI: 10.1128/AAC.00375-06
24. McDonnell G., Russell A.D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12:147-179. DOI: 10.1128/CMR.12.1.147
25. Belessi C.E., Gounadaki A.S., Psomas A.N., Skandamis P.N. Efficiency of different sanitation methods on *Listeria monocytogenes* biofilms formed under various environmental conditions. *Int J Food Microbiol.* 2011;1:25. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.10.020
26. Bonez P.C., Dos Santos Alves C.F., Dalmolin T.V., Agertt V.A., Mizdal C.R., Flores Vda C., et al. Chlorhexidine activity against bacterial biofilms. *Am J Infect Control.* 2013;41(12):e119-22. DOI: 10.1016/j.ajic.2013.05.002
27. Sitnikova K.O., Nemchenko U.M., Voropaeva N.M., Grigorova E.V., Savilov E.D., Markova Yu.A., et al. The effectiveness of biofilm formation of daily cultures of clinically significant strains of opportunistic bacteria. *Acta biomedica scientifica.* 2022;7(5-1):119-128. Russian. (Ситникова К.О., Немченко У.М., Воропаева Н.М., Григорова Е.В., Савилов Е.Д., Маркова Ю.А. и соавт. Динамика образования биоплёнок клинически значимыми штаммами условно-патогенных бактерий. *Acta biomedica scientifica.* 2022;7(5-1):119-128.) DOI: 10.29413/ABS.2022-7.5-1.13
28. Zhang Z., Nadezhina E., Wilkinson K.J. Quantifying diffusion in a biofilm of *Streptococcus mutans*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011;55:1075-1081. DOI: 10.1128/AAC.01329-10
29. Elchinger P.H., Delattre C., Faure S., Roy O., Badel S., Bernardi T., et al. Immobilization of proteases on chitosan for the development of films with anti-biofilm properties. *Int J Biol Macromol.* 2015;72:1063-1068. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2014.09.061
30. Ortega-Peña S., Hidalgo-González C., Robson M.C., Kröttsch E. *In vitro* microbicidal, anti-biofilm and cytotoxic effects of different commercial antiseptics. *Int Wound J.* 2017;14(3):470-479. DOI: 10.1111/iwj.12625
31. 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.* 2021;66(7):438-447. Russian. (Детушева Е.В., Ершова О.Н., Фурсова Н.К. Чувствительность планктонных культур и биоплёнок грамотрицательных бактерий к коммерческим препаратам дезинфектантов и антисептиков. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2021;66(7):438-447.) DOI: 10.51620/0869-2084-2021-66-7-438-447