

ВЛИЯНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ НА РОСТ БИОПЛЕНКИ КЛИНИЧЕСКИХ ИЗОЛЯТОВ

Сухина М.А.¹, Калашникова И.А.¹, Кашников В.Н.¹,
Веселов А.В.¹, Михалевская В.И.¹, Пиядина А.Ю.²

¹ ФГБУ «ГНЦК им. А.Н.Рыжих» Минздрава России, г. Москва
(директор – чл.-корр. РАН, профессор Ю.А.Шелыгин)

² ФГБНУ НИИВС им. И.И.Мечникова, г. Москва
(директор – академик РАН, профессор В.В.Зверев)

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Изучение влияния активных внеклеточных веществ лактобацилл и противомикробных агентов на процессы ингибирования и разрушения биопленок, образуемых клиническими штаммами микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Изучение влияния различных агентов на формирование и рост биопленки проводилось на резистентных клинических штаммах микроорганизмов, полученных от пациентов с гнойно-воспалительными осложнениями после оперативных вмешательств. В качестве ингибирующих факторов были использованы раствор для обработки ран, кожный антисептик, фильтраты 19 клинических штаммов лактобацилл и штамм *Lactobacillus plantarum* из пробиотика «Лактобактерин сухой» (ФГУП «НПО «Микроген», Нижний Новгород; серия 46/06-1209) в качестве эталонного штамма-продуцента бактериоцинов.

Биопленки на стеклянных носителях инкубировали при 37°C 48 часов и визуализировали с использованием микроскопа, обеспечивая увеличение $\times 960$.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Все выбранные факторы обладают хорошей ингибирующей способностью и по силе воздействия находятся приблизительно на одном уровне. Кожный антисептик и жидкость для промывания ран обладают лишь ингибирующим действием на процесс формирования биопленок, в то время как на планктонную форму клеток данные препараты оказывают бактерицидное действие. Фильтрат лактобактерий ингибировал образование биопленок у изученных штаммов бактерий и был способен разрушать уже сформированные 24-х часовые бактериальные пленки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Использование бактериоцинов лактобактерий может открыть дополнительные возможности для борьбы с инфекцией, ассоциированной с микроорганизмами, организованными в биопленки.

[Ключевые слова: биопленки, антибактериальные препараты, бактериоцины, *Lactobacillus*]

EFFECT OF ANTIMICROBIAL AGENTS ON THE BIOFILM GROWTH OF CLINICAL ISOLATES

Sukhina M.A.¹, Kalashnikova I.A.¹, Kashnikov V.N.¹, Veselov A.V.¹, Mikhalevskaya V.I.¹, Piyadina A.Yu.²

¹ State Scientific Center of Coloproctology, Moscow, Russia

² I.I. Mechnikov Research Institute of Vaccine and Serum, Moscow, Russia

OBJECTIVE. To study the effect of active extracellular substances of lactobacilli and antimicrobial agents on the inhibition and destruction of the biofilms formed clinically relevant microorganism strains.

MATERIALS AND METHODS. The study of the impact of different agents on the biofilm formation and growth was carried out on resistant clinical strains of microorganisms obtained from patients with post-surgical infectious inflammatory complications. We used wound dressing solution, cutaneous antiseptic, filtrates of 19 clinical strains of lactobacilli and a strain of *Lactobacillus plantarum* from the probiotic «Lactobacterin dry» (Microgen, Nizhny Novgorod, series 46 / 06-1209) as a reference strain-producer of bacteriocins for biofilm inhibition. Biofilms were incubated for 48 hours on glass carriers at 37°C and visualized with a light microscope at 960x magnifying.

RESULTS. All substances possess a good inhibitory potential and have approximately same level of effect. The skin antiseptic and wound washing fluid have only an inhibiting effect on the biofilm formation process, while the having a bactericidal effect on planktonic form of the cells. The lactobacilli filtrate inhibited the biofilm formation and was also able to destroy preformed 24-hour bacterial films.

CONCLUSION. The use of lactobacilli bacteriocins can reveal additional opportunities for combating the infection associated with biofilm-forming microorganisms.

[Keywords: biofilms, antimicrobial preparations, bacteriocins, *Lactobacillus*]

**Адрес для переписки: Сухина М.А., ФГБУ «ГНЦК им.А.Н.Рыжих» Минздрава России,
ул. Саляма Адия, д. 2, Москва, 123423; e-mail: marinamari272015@gmail.com**

ВВЕДЕНИЕ

Последние десятилетия активно изучаются процессы образования микроорганизмами биопленки. Исследования направлены на поиск путей ингибирования и предотвращения роста биопленочных

культур бактерий. Несмотря на то, что около 99% всех бактерий существует именно в форме биопленок, визуализация и изучение их структуры и процессов, происходящих в биопленках, стали возможными только с появлением средств визуализации, особенно сканирующей электронной и

конфокальной микроскопии. По данным Центра по контролю и профилактике заболеваний (Атланта, США), до 80% бактериальных инфекций, поражающих людей в западных странах вызваны полимикробными биопленками. Бактериальная пленка состоит из клеточного компонента – одной или нескольких культур бактерий – и внеклеточного матрикса, представляющего из себя сложную биохимическую структуру из полисахаридов, гликопептидов, нуклеиновых кислот и липидов [13,14]. Внеклеточный матрикс, объединяя микробные клетки в единую систему, выполняет структурообразующую функцию. На слизистых оболочках открытых полостей (рот, кишечник, влагалище) матрикс помимо матричных биополимеров, синтезируемых бактериями и структур матрикса, захваченных микроорганизмами из окружающей среды, дополняется производными разрушенных эпителиоцитов, биополимерами естественных секретов, а при патологии – компонентами воспалительного экссудата [3]. Для образования биопленки бактериям не требуется никаких специальных условий, достаточно лишь наличие границы сред обитания бактерий и относительно твердой поверхности неорганического или органического происхождения. Основные преимущества биопленок, в частности, адгезию, защиту и формирование структуры, обеспечивает полисахаридный компонент матрицы. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что формирование биопленки запрограммировано и регулируется через синтез компонентов внеклеточного матрикса бактериями биопленки [14]. В процессе формирования биопленок участвует регуляция экспрессии генов в сообществах микроорганизмов – Quorum Sensing (QS) [5]. Этот тип регуляции экспрессии генов бактерий включает в себя низкомолекулярные сигнальные молекулы-аутоиндукторы и регуляторные рецепторные белки, и зависит от плотности бактерий в популяции. QS-системы функционируют как глобальные факторы регуляции экспрессии генов бактерий и играют ключевую роль в большинстве процессов, происходящих в бактериальной клетке.

Организация бактерий в сообщества наделяет их новыми патогенными свойствами. В исследованиях Flemming H. с соавторами была показана положительная корреляция способности бактерий к образованию биопленки со степенью их вирулентности [9]. Дальнейшее изучение свойств бактерий, организованных в биопленки, продемонстрировало большую устойчивость бактериальных клеток к неблагоприятным факторам внешней среды, воздействию иммунной системы и антибактериальных препаратов. В экспериментах была продемонстрирована выживаемость бактерий, орга-

низованных в биопленки, при воздействии на них антибактериальных препаратов в концентрациях, значительно превышающих стандартные терапевтические дозировки [11,15].

Бактериальные биопленки покрывают слизистые организма человека. Наиболее разнообразная по своему составу и мощная биопленка покрывает слизистую кишечника. В кишечном биотопе гомеостаз поддерживается регуляторными механизмами автохтонной микробиоты. Одним из основных механизмов колонизационной резистентности кишечного микробиоценоза являются бактериоцины – вещества антибактериальной природы, продуцируемые лактобациллами. Учитывая рост антибактериальной резистентности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, бактериоцины могут стать перспективными аналогами антибиотиков. Boehm A. с соавторами, используя в качестве моделей штаммы *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*, показали, что антибиотика в минимальных концентрациях могут действовать как стрессовые сигналы и вызывать в ответ на их действие формирование биопленок [6]. В дальнейших исследованиях было установлено, что такой эффект, в первую очередь, связан с изменением уровня c-di-GMP, вторичного мессенджера, который связан с фосфодиэстеразой мембраны [10]. Другими исследователями был описан парадоксальный факт усиления биопленкообразования бактериями *Staphylococcus caritis* при воздействии максимальных терапевтических концентраций оксациллина [12]. Планктонные культуры бактерий демонстрируют меньшую антибактериальную резистентность, по сравнению с пленочными культурами. Это объясняется непосредственным контактом антибактериального вещества и бактериальной клетки, в то время как в пленочной культуре такому взаимодействию препятствует матрикс биопленки [11]. Заключение в матрикс биопленки микроорганизмы обладают высокой резистентностью к действию антибактериальных препаратов и антисептиков. Механизмы антибактериальной резистентности, связанные с особенностями компонентов матрикса, повышают способность бактерий к мутациям [4]. Множественная резистентность связана с низкой метаболической активностью и существованием в биопленках персистирующих форм бактерий, число которых может достигать до 10%. Персистирующие бактерии образуются вследствие обратимого блока трансляции и синтеза белков, возникающего при стрессовой ситуации. При благоприятных условиях сохраняется возможность реверсии персистеров в нормальные клетки [1]. Механизм резистентности к антибактериальным препаратам в этом

случае, объясняется тем, что действие антибиотиков, в основном, направлено на угнетение биохимических процессов метаболически активных бактерий [8]. Ещё один механизм множественной лекарственной устойчивости может быть связан с тем, что внутри полимикробной биоплёнки могут присутствовать популяции бактерий с разными защитными свойствами, дополняющими друг друга. Например, часть бактерий биопленки может синтезировать высокие концентрации β -лактамаз, тем самым обеспечивая защиту остальных бактерий [7,15].

Несмотря на большой интерес ученых к проблеме существования бактерий в биопленках по-прежнему точные механизмы регуляции биопленкообразования остаются малоизученными и требуют дальнейших исследований. Таким образом, новые представления о бактериях, организованных в биопленки, создают потребность в применении новых подходов к диагностике и лечению инфекций, предшествовать которому должны исследования механизмов антибиотикорезистентности бактерий, организованных в биопленки. Способность бактерий образовывать биопленки на различных поверхностях (дренажах, катетерах, имплантах, линзах, протезах, искусственных клапанах сердца и т.д.) является большой проблемой в клинической медицине и обуславливает необходимость поиска путей ингибирования формирования и/или разрушения биопленок.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью нашего исследования явилось изучение влияния активных внеклеточных веществ лактобацилл и противомикробных агентов на процессы ингибирования и разрушения биопленок, образуемых клиническими штаммами микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение влияния различных агентов на формирование и рост биопленки проводилось на клинических штаммах микроорганизмов *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000, *Acinetobacter baumannii* 480, изолированных из биоматериала пациентов с гнойно-воспалительными осложнениями после оперативных вмешательств. Эти штаммы характеризовались высоким уровнем резистентности к антибактериальным препаратам (более чем к 10 антибиотикам), входят в число ведущей микрофлоры, изолируемой от пациентов с гнойно-вос-

палительными процессами и обладают высоким уровнем биопленкообразования.

В качестве ингибирующих факторов были использованы:

- 1) Раствор для обработки ран, представляющий собой двухкомпонентный раствор, состоящий из 0,1% полиаминопропила бигуанида (полигесанид), 0,1% ундециленового амидопропил-бетаина (сурфактанта) и очищенной воды, который используется в клинической медицине для очищения, увлажнения и деконтаминации ран, растворения биопленок с защитой раневой поверхности от повреждения. Благодаря наличию сурфактанта раствор хорошо смачивает поверхность. Гидрофобные радикалы этого компонента поглощают нерастворимые в воде вещества, что позволяет разрушать и растворять биопленки и достигать хорошего ирригационного эффекта даже при глубоких полостных ранах. Входящий в состав раствора 0,1% полиаминопропил бигуанид является антибактериальным компонентом с хорошей раневой переносимостью.
 - 2) Кожный антисептик, состоящий из n-пропанола, изопропанола, алкилдиметилбензиламмония хлорида (ЧАС) и функциональных добавок для ухода за кожей рук. Такой состав обеспечивает бактерицидную, туберкулоцидную, вирулицидную и фунгицидную активность кожного антисептика и используется для дезинфекции рук, обработки операционного поля.
 - 3) Фильтрат 19 клинических штаммов лактобацилл 48 часовой культуры, содержащий бактериоцины.
 - 4) Штамм *Lactobacillus plantarum*, выделенный из коммерческого препарата пробиотика «Лактобактерин сухой» (ФГУП «НПО «Микроген», Нижний Новгород; серия 46/06-1209), был использован в качестве эталонного штамма-продуцента бактериоцинов [2].
- Изучение влияния этих веществ на процесс формирования биопленок проводили на 24 часовой культуре. Биопленки выращивались на границе сред стекло/голодный бульон плотность посевной дозы составляла 1,0 McF. На стерильное покровное стекло наносили бактериальную взвесь плотностью 1,0 McF и объемом 1 мл. Затем смешивали её с 1 мл каждого из 3-х выбранных факторов и инкубировали в условиях инкубатора при температуре 37°C 48 часов. После инкубации и серии промывок, стекла фиксировали 96% этиловым спиртом и окрашивали 1%-м раствором альцианового синего pH-2,0, позволяющим выявлять кислые мукополисахариды в тканевых образцах. Визуализация биопленок на стеклянных носителях осуществлялась светооптически с использованием микроскопа, обеспечивающего увеличение $\times 960$.

Процесс разрушения биопленок изучался на 24 часовой пленочной культуре клинических изолятов микроорганизмов: *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000, *Acinetobacter baumannii* 480. На сформированную 24 часовую пленочную культуру наносили 1 мл тестируемого вещества, предварительно промыв стекло в дистиллированной воде. Затем биопленки инкубировали в термостате при температуре 37°C 48 часов и визуализировали светооптически с использованием микроскопа, обеспечивающего увеличение $\times 960$.

Для группового сравнения использовали тест Крускала – Воллиса. Данные обрабатывались с помощью пакета программ STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc.). Достоверными считали различия при уровне $p < 0,05$, уровень «р» в интервале $0,05 < p < 0,1$ рассматривали как тенденцию к различию.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для удобства оценки способности бактерий формировать биопленки нами были использованы следующие критерии оценки, основанные на условном разделении сформированных биопленок по площади и плотности покрытия бактериальной биопленкой поверхности покровного стекла 24 × 24 мм: I степень – отдельные участки биоплёнки небольших размеров, обнаруживающиеся не менее, чем в 3-х полях зрения, не формирующие сплошного слоя плёнки;

II степень – отдельные интенсивно окрашивающиеся, не формирующие сплошного слоя фрагменты биоплёнки, часто связанные между собой, обнаруживающиеся в каждом из полей зрения;

III степень – крупные интенсивно окрашенные, связанные между собой фрагменты биоплёнки, размеры участков сформировавшейся биопленки сопоставимы с размерами дефектов;

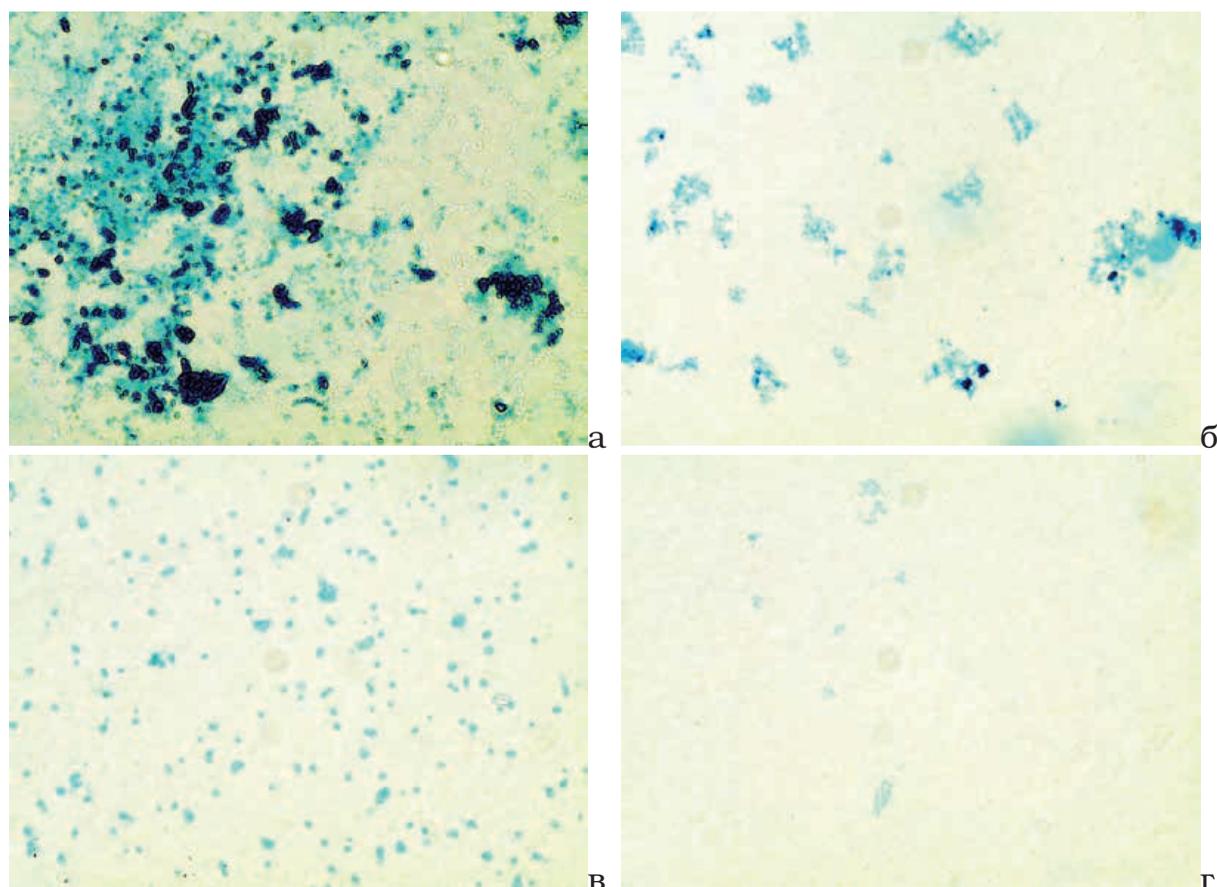


Рисунок 1. Ингибирование формирования биоплёнок полирезистентного штамма *A.baumannii* 480 противомикробными препаратами: раствором для обработки ран, кожным антисептиком и фильтратом лактобактерий (окраска альциановым синим, ув. 960 \times): а) контроль – 24 часовая биопленка, образованная полирезистентным штаммом *A.baumannii* 480; б) ингибирование роста биопленки *A.baumannii* 480 кожным антисептиком; в) ингибирование роста биопленки *A.baumannii* 480 раствором для промывания ран; г) ингибирование роста биопленки *A.baumannii* 480 фильтратом лактобацилл

Таблица 1. Степень ингибирования формирования биопленок клинически значимых микроорганизмов различными антимикробными агентами

Ингибирующий фактор		Степень формирования биопленки			
Номер штамма	Вид микроорганизма	<i>E.coli</i> 317	<i>K.pneumoniae</i> 458	<i>P.aeruginosa</i> 1000	<i>A.baumannii</i> 480
контроль	<i>Lactobacillus plantarum</i>	2	3	2	2
101	<i>L.paracasei</i>	1	1	<1	2
214	<i>L.rhamnosus</i>	2	1	<1	1
245	<i>L.paracasei</i>	1	1	1	1
244/2	<i>L.plantarum</i>	<1	<1	1	1
243	<i>L.paracasei</i>	<1	1	1	<1
241/2	<i>L.rhamnosus</i>	1	1	1	2
239/1	<i>L.rhamnosus</i>	1	1	1	1
215	<i>L.zaeae</i>	<1	1	<1	1
215	<i>L.paracasei</i>	1	2	1	1
547	<i>L.fermentum</i>	1	1	1	1
400	<i>L.rhamnosus</i>	1	1	1	1
509	<i>L.rhamnosus</i>	1	1	2	1
340/1	<i>L.paracasei</i>	1	1	2	<1
349	<i>L.fermentum</i>	<1	1	1	1
340/2	<i>L.brevis</i>	2	1	1	1
341/2	<i>L.gasseri</i>	1	1	1	1
445	<i>L.paracasei</i>	1	1	1	1
416/1	<i>L.paracasei</i>	1	1	1	1
58	<i>L.fermentum</i>	<1	1	<1	1
Кожный антисептик		1	1	<1	<1
Раствор для обработки ран		<1	1	<1	1

IV степень – слой биопленки, покрывающий всю поверхность покровного стекла, без дефектов или с единичными дефектами, не превышающими 1 мм. Все исследованные культуры образовывали биопленки через 24 часа инкубации, соответствующие III и IV степени.

Для изучения ингибирующего воздействия на процесс формирования биопленки у штаммов *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000, *Acinetobacter baumannii* 480 использовали противомикробные препараты раствор для обработки ран, состоящий из 0,1% полиаминопропила бигуанида (полигесанид), 0,1% ундециленового амидопропил-бетаина (сурфактанта) и очищенной воды, кожный антисептик и антагонистически активные вещества, находящиеся в фильтрате 48 бульонной культуры 19-ти различных штаммов лактобацилл. Полученные данные приведены в таблице 1. После совместной инкубации с тестируемыми агентами способность бактерий образовывать биопленку достоверно снижалась ($p < 0,05$) и в большинстве случаев (95%) тестируемые микроорганизмы образовывали через 24 часа инкубации отдельные участки биопленки небольших размеров, которые обнаруживались более чем в 3-х полях зрения и не формировали сплошной слой пленки, что соответствовало I стадии биофильмогенеза (Рис. 1).

Полученные данные свидетельствуют о способности тестируемых веществ ингибировать формирование биопленки у клинических штаммов микроорганизмов, изолированных от пациентов с гнойно-воспалительными процессами. По силе воздействия на процесс биофильмогенеза раствора для обработки ран и кожного антисептика нами не были выявлены статистические различия. В тоже время эти препараты оказывали бактерицидное действие на планктонную культуру тестируемых штаммов микроорганизмов. Уровень активности штамма *Lactobacillus plantarum*, выделенного из коммерческого препарата пробиотика «Лактобактерин сухой» (ФГУП «НПО «Микроген», Нижний Новгород; серия 46/06-1209), был в два раза слабее, в сравнении со штаммами лактобактерий, изолированными из толстокишечного биотопа пациентов (Табл. 1).

Помимо предотвращения формирования биопленки важно найти способ разрушить уже сформированные пленки микроорганизмов. Эффект разрушения уже сформированной клиническими штаммами *Escherichia coli* 317, *Klebsiella pneumoniae* 458, *Pseudomonas aeruginosa* 1000, *Acinetobacter baumannii* 480 биопленки был оценен при воздействии на них теми же веществами, которые были использованы нами при ингибировании биопленкообразования.

Таблица 2. Степень разрушения биопленок клинически значимых микроорганизмов различными анти-микробными агентами

Ингибирующий фактор		Степень формирования биопленки			
Номер штамма	Вид штамма	<i>E. coli</i> 317	<i>K. pneumoniae</i> 458	<i>P. aeruginosa</i> 1000	<i>A.baumannii</i> 480
контроль	<i>L. plantarum</i>	1	1	1	2
101	<i>L.paracasei</i>	1	2	1	1
214	<i>L.rhamnosus</i>	1	2	1	1
245	<i>L.paracasei</i>	1	1	1	1
244/2	<i>L.plantarum</i>	1	1	1	1
243	<i>L.paracasei</i>	1	1	1	1
241/2	<i>L.rhamnosus</i>	1	1	1	2
239/1	<i>L.rhamnosus</i>	1	1	1	1
215	<i>L.zeae</i>	1	1	1	1
215	<i>L.paracasei</i>	2	1	1	1
547	<i>L.fermentum</i>	1	1	1	1
400	<i>L.rhamnosus</i>	1	2	1	1
509	<i>L.rhamnosus</i>	1	1	1	1
340/1	<i>L.paracasei</i>	1	1	1	1
349	<i>L.fermentum</i>	1	2	1	1
340/2	<i>L.brevis</i>	1	1	1	1
341/2	<i>L.gasseri</i>	1	1	1	1
415	<i>L.paracasei</i>	1	1	1	1
416/1	<i>L.paracasei</i>	1	1	1	1
Кожный антисептик		1	3	1	1
Раствор для обработки ран		1	1	1	1

При воздействии на уже сформированные 24-х часовые биопленочные культуры и инкубировании их в течении 24-х часов, наблюдались процессы разрушения бактериальной пленки (Табл. 2).

Антибактериальный эффект фильтрата лактобактерий, кожного антисептика и раствора для обработки ран был несколько ниже в сравнении с процессом ингибирования формирования бактериальной биопленки. Тем не менее, разрушительное действие на биопленки испытуемые вещества оказывали в 90% случаев. Воздействие кожного антисептика, раствора для обработки ран и фильтратов лактобактерий характеризовалось деградацией биопленки с 3-4 степени до 1 и редко до 2-й и 3-й

степени биопленкообразования. Но следует отметить, что биопленки, образованные клиническим штаммом *K.pneumoniae* 458, были устойчивы к действию на них кожного антисептика, состоящего из п-пропанола, изопропанола, алкилдиметилбензиламмония хлорида (ЧАС). Полученные нами результаты свидетельствуют о необходимости дополнительной обработки рук медицинского персонала для предотвращения передачи полирезистентных штаммов бактерий, организованных в биопленочные сообщества. Фильтраты лактобактерий и раствор для обработки ран в большинстве случаев разрушали биопленку, сформированную полирезистентным штаммом *K. pneumoniae* 458 (Рис. 2).

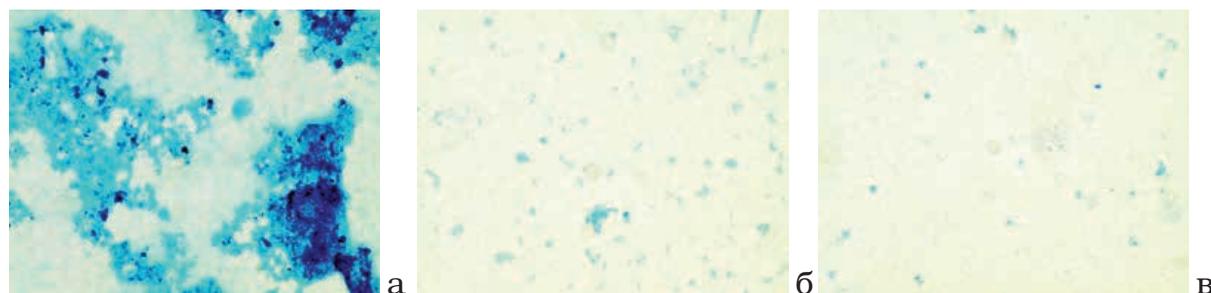


Рисунок 2. Разрушение 24 часовой биопленки полирезистентного штамма *K. pneumoniae* 458 фильтратом лактобактерий и раствором для обработки ран (окраска альциановым синим, ув. 960х): а) 24 часовая биопленка, образованная полирезистентным штаммом *K. pneumoniae* 458; б) 24 часовая биопленка, образованная полирезистентным штаммом *K. pneumoniae* 458 после воздействия на нее раствором для обработки ран в) 24 часовая биопленка, образованная полирезистентным штаммом *K. pneumoniae* 458 после воздействия на нее фильтрата лактобацилл

Все выбранные факторы обладают хорошей ингибирующей способностью и по силе воздействия находятся приблизительно на одном уровне. Разница в результатах при добавлении антибактериального агента в момент образования пленки или же спустя 24 часа её роста является несущественной. Кожный антисептик, состоящий из *n*-пропанола, изопропанола, алкилдиметилбензиламмония хлорида (ЧАС) и функциональных добавок для ухода за кожей рук, и жидкость для промывания ран, в состав которой входит 0,1% полиаминопропил бигуанид (полигесанид), 0,1% ундециленовый амидопропил-бетаин (сурфактант) и очищенная вода, обладают лишь ингибирующим действием на процесс формирования биопленок, в то время как на планктонную форму клеток данные препараты оказывают бактерицидный эффект. Фильтрат лактобактерий ингибировал образование биопленок у изученных штаммов бактерий и был способен разрушать уже сформированные 24-х часовые бактериальные пленки.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение хотелось еще раз отметить, что биопленка является сложной трехмерной биологической структурой, способствующей успешному противостоянию внешним факторам агрессии. В практическом здравоохранении высокая выживаемость биопленочных бактерий ведет не только к более частым рецидивам заболеваний, хронизации инфекционного процесса, но и к распространению внутрибольничной инфекции. Вследствие этого возникает потребность в применении новых подходов к микробиологическому исследованию, которое должно быть основано не только на определении резистентности изолированных микроорганизмов в планктонной форме к антибактериальным препаратам, но и в оценке их активности для ингибирования и/или разрушения биопленок бактерий. Использование бактериоцинов лактобактерий может открыть дополнительные возможности для борьбы с инфекцией, ассоциированной с микроорганизмами, организованными в биопленки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Плакунов, В.К. Персистенция и адаптивный мутагенез в биопленках / Е.А.Стрелкова, М.В.Журина // Микробиология. – 2010. – т. 79. – № 4. – с. 447-458.
2. Сухина, М.А. Антагонистическая активность лактобацилл толстой кишки / М.А.Сухина и соавт. // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2012. – № 1. – с. 41-49.
3. Чеботарь, И.В. Матрикс микробных биопленок / А.Н.Маянский, Н.А.Маянский // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2016. – т. 18. – № 1. – с. 9-19.
4. Allison, D.G. The biofilm matrix / D.G.Allison // Biofouling. – 2003. – v. 19. – № 2. – p. 139-150.
5. Bassler, B.L. Bacterially speaking / B.L.Bassler, R.Losick // Cell. – 2006. – v. 125. – № 2. – p. 237-246.
6. Boehm, A. et al. Second messenger signalling governs Escherichia coli biofilm induction upon ribosomal stress / A.Boehm et al. // Molecular microbiology. – 2009. – v. 72. – № 6. – p. 1500-1516.
7. Ciofu, O. Pseudomonas aeruginosa chromosomal beta-lactamase in patients with cystic fibrosis and chronic lung infection. Mechanism of antibiotic resistance and target of the humoral immune response / O.Ciofu // APMIS. Supplementum. – 2003. – № 116. – p. 1-47.
8. Cos, P. Biofilms: an extra hurdle for effective antimicrobial therapy / P.Cos et al. // Current pharmaceutical design. – 2010. – v. 16. – № 20. – p. 2279-2295.
9. Flemming, H.C. The biofilm matrix / H.C.Flemming, J.Wingender // Nature Reviews Microbiology. – 2010. – Т. 8. – № 9. – С. 623.
10. Hoffman, L.R. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation / Hoffman L.R. et al. // Nature. – 2005. – v. 436. – № 7054. – p. 1171.
11. Mulla, S. Comparison of MIC with MBEC assay for in vitro antimicrobial susceptibility testing in biofilm forming clinical bacterial isolates / S.Mulla, A.Kumar, S.Rajdev // Advances in Microbiology. – 2016. – v. 6. – № 02. – p. 73.
12. Qu, Y. et al. Antibiotic susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from very low birth weight babies: comprehensive comparisons of bacteria at different stages of biofilm formation / Y.Qu et al. // Annals of clinical microbiology and antimicrobials. – 2010. – v. 9. – № 1. – p. 16.
13. Stewart, P.S. Physiological heterogeneity in biofilms / P.S.Stewart, M.J.Franklin // Nature Reviews Microbiology. – 2008. – v. 6. – № 3. – p. 199.
14. Tolker-Nielsen Development and dynamics of Pseudomonas sp. biofilms / T.Tolker-Nielsen et al. // Journal of bacteriology. – 2000. – v. 182. – № 22. – p. 6482-6489.
15. Weigel, L.M. et al. High-level vancomycin-resistant Staphylococcus aureus isolates associated with a polymicrobial biofilm / L.M.Weigel et al. // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 2007. – v. 51. – № 1. – p. 231-238.