

Оценка эффективности антибиотиков в отношении *Vibrio cholerae* в условиях формирования сложной биоплёнки

*Н. А. СЕЛЯНСКАЯ, Е. А. МЕНЬШИКОВА, Е. М. КУРБАТОВА, С. Н. ГОЛОВИН

ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону

Evaluation of Antibiotics Effectiveness Against *Vibrio Cholerae* under the Conditions of Complex Biofilm Formation

*N. A. SELYANSKAYA, E. A. MENSNIKOVA, E. M. KURBATOVA, S. N. GOLOVIN

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute, Rostov-on-Don

Изучена эффективность 9 антибиотиков в отношении моно- и полимикробных биоплёнок, образованных *in vitro* на фрагментах экзоскелета хитинового панциря широкопалого речного рака *Astacus astacus* штаммами *Vibrio cholerae* O1 в монокультуре и в ассоциации с условно-патогенными бактериями *Klebsiella* spp. и *V. cholerae* nonO1/nonO139. Выявлено повышение антибиотикоустойчивости мономикробных биоплёнок в сравнении с планктонной формой. Устойчивость к большинству антибактериальных препаратов в составе полимикробных биоплёнок соответствовала значениям этих препаратов для штамма, наиболее устойчивого в составе мономикробной биоплёнки. В биоплёнках, образованных токсигенными классическими штаммами совместно с *V. cholerae* nonO1/nonO139, наблюдалось увеличение устойчивости к двум и трём препаратам, а совместно с *Klebsiella* spp. — к одному антибактериальному препарату. Изменения антибиотикочувствительности при взаимодействии между бактериями в составе полимикробной биоплёнки должны приниматься во внимание при разработке тактики профилактики и лечения инфекций.

Ключевые слова: холерный вибрион, биоплёнка, антибиотикорезистентность.

The effectiveness of 9 antibiotics against mono- and polymicrobial biofilms formed by *Vibrio cholerae* O1 strains was studied *in vitro* on fragments of chitinous exoskeleton of broad-fingered crayfish *Astacus astacus* in monoculture and together with opportunistic bacteria *Klebsiella* spp. and non-O1/non-O139 *V. cholerae*. An increase in the antibiotic resistance of monomicrobial biofilms compared with planktonic bacteria was observed. Resistance of the polymicrobial biofilm bacteria to most antibacterial drugs corresponded to the resistance of the most stable strain in the monomicrobial biofilm. An increase in resistance to two and three drugs was observed in biofilms formed by classical toxigenic strains together with non-O1/non-O139 *V. cholerae*, while in biofilms formed together with *Klebsiella* spp. — to one antibacterial drug. Changes in antibiotic sensitivity during the interaction between bacteria in polymicrobial biofilm should be taken into account when developing tactics for prevention and treatment of infections.

Keywords: *Vibrio cholerae*, biofilm, antibiotic resistance.

Введение

Представители рода *Vibrio* широко распространены в различных водоёмах мира и являются важным компонентом биоценоза, участвуя в круговороте органических веществ. В настоящее время убедительно представлено значение поверхностных водоёмов как сложной составной части среды обитания *Vibrio cholerae* El Tor [1]. Особую роль в сохранении и эволюционных преобразованиях холерного вибриона в водных экосистемах играют хитинсодержащие планктонные животные, из которых наибольшую часть составляют ракообразные [2, 3]. Хитинсодержащие водные организмы служат для *V. cholerae* местом обитания (резервуаром), питательным субстратом, своеобразным убе-

жищем от неблагоприятных факторов окружающей среды, а для человека — средством его инфицирования при употреблении загрязнённой планктоном воды и необработанных морепродуктов [4].

Вступая в сложные взаимодействия с представителями водной микрофлоры, включая условно-патогенные бактерии, холерные вибрионы способны прикрепляться к различным абиотическим и биотическим поверхностям и образовывать высокоорганизованные биоплёнки [5].

Данные литературы свидетельствуют о том, что в составе биоплёнок бактерии становятся более устойчивыми к воздействию внешних факторов, в том числе антибактериальных препаратов, из-за наличия экзополисахаридного матрикса, создающего диффузионный барьер и содержащего внеклеточные ферменты, разрушающие антибиотики [6]. Кроме того, в биоплёнках присутствует значительное количество клеток в стационарной фазе, имеющих пониженную чувствительность ко

© Коллектив авторов, 2020

*Адрес для корреспонденции: 344002, Ростов-на-Дону, ул. М. Горького, 117/40. Ростовский-на-Дону противочумный институт. E. mail: ppdn@inbox.ru

многим противомикробным препаратам, а также клеток-персистеров, обладающих множественной лекарственной устойчивостью [7, 8].

Высокая плотность клеток и повышенная генетическая компетентность в бактериальных сообществах способствуют более эффективной передаче (до 700 раз) между бактериями мобильных генетических элементов с генами антибиотикоустойчивости по сравнению со свободноживущими бактериальными клетками [9, 10].

В биоплёнках *V.cholerae* имеется альтернативный механизм горизонтального переноса генов, обеспечиваемый системой секреции VI типа, которая позволяет получать ДНК других бактерий путём их лизиса и захвата с помощью механизмов компетентности и/или естественной трансформации [11].

Исследования учёных показали, что полимикробные биоплёнки в сравнении с мономикробными имеют повышенный уровень синтеза факторов вирулентности и более плотный, непроницаемый для антибактериальных веществ матрикс, состав которого сильно варьирует в зависимости от вида бактерий и условий окружающей среды, и соответственно, может обеспечить более сильную защиту против антимикробных средств [12].

В рамках полимикробной биоплёнки бактерии могут синтезировать различные вещества, помогающие им выжить в агрессивной среде и обеспечивающие условия, способствующие выживанию других членов биоплёнки [13], поэтому чувствительность к антибиотикам одного микроба может измениться в присутствии других видов [14].

Проведённые нами ранее исследования показали повышение антибиотикорезистентности биоплёночных культур холерных вибрионов в сравнении с планктонными формами [15]. Однако данные о чувствительности к антибактериальным препаратам холерных вибрионов в составе смешанной полимикробной биоплёнки на сегодняшний день отсутствуют.

Цель работы — оценить эффективность антибактериальных препаратов в отношении клеток *V.cholerae* в составе полимикробной биоплёнки.

Материал и методы

Для работы из Музея живых культур ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора были получены штаммы: *V.cholerae* O1 classical (ctx⁺ tcp⁺) №№569 В, 1392, *V.cholerae* O1 El Tor (ctx⁺ tcp⁺) №№81, P-5879, *V.cholerae* O1 El Tor (ctx⁻ tcp⁻) №20000, *Klebsiella* spp., *V.cholerae* nonO1/nonO139 №30 (ctx⁻ tcp⁻), которые использовались для получения мономикробных биоплёнок. Для образования полимикробных биоплёнок были сформированы пары штаммов: *V.cholerae* O1 classical 569 В + *Klebsiella* spp., *V.cholerae* O1 El Tor 81 + *Klebsiella* spp., *V.cholerae* O1 El Tor P-5879 + *Klebsiella* spp., *V.cholerae* O1 El Tor 20000 + *Klebsiella* spp., *V.cholerae* O1 classical 569 В + *V.cholerae* nonO1/nonO139 30, *V.cholerae* O1 classical 1392 + *V.cholerae* nonO1/nonO139 30, *V.cholerae* O1 El Tor 81 + *V.cholerae* nonO1/nonO139 30, *V.cholerae* O1 El Tor P-5879 + *V.cholerae* nonO1/nonO139 30.

Моделирование моно- и полимикробных биоплёнок *in vitro* проводили на фрагментах экзоскелета хитинового панциря широкопалого речного рака *Astacus astacus*, которые помещали во флаконы с речной автоклавируемой водой (50 мл), контаминированные взвесью 10⁴/мл микробных клеток бактерий и выдерживали при 28±2°С до 20 сут для получения зрелых биоплёнок в соответствии с авторской методикой [16]. Затем пластинки хитина с образовавшимися биоплёнками трёхкратно промывали в физиологическом растворе.

Культуры в мазках-отпечатках биоплёнок идентифицировали по морфологии колоний, тесту на оксидазу и реакции агглютинации на стекле с O1-холерной сывороткой.

Визуализацию матрикса моно- и полимикробных биоплёнок проводили с использованием трансмиссионного электронного микроскопа Jeol JEM-1011 (ТЭМ). Стандартная процедура пробоподготовки для ТЭМ включает фиксацию фрагментов экзоскелета в 2,5 % растворе глутарового альдегида, постфиксацию и контрастирование 1 % раствором тетраоксида осмия (OsO₄), обезвоживание в растворах этанола восходящей концентрации (50°, 60°, 70°, 80°, абсолютный этанол), пропитывание эпоксидной смолой, заливку и полимеризацию блоков. Из полученных блоков с образцами при помощи ультратома изготавливали ультратонкие срезы толщиной 60–70 нм, которые монтировали на медные сеточки и контрастировали в 1 % водном растворе уранилацетата и в 0,3 % водном растворе цитрата свинца. После высушивания образцы исследовали в трансмиссионном электронном микроскопе JEM-1011 («Jeol», Япония) при ускоряющем напряжении 100 кВ. Изображения получали при помощи CCD-камеры Olympus SIS Veleta с применением программного обеспечения Olympus iTEM TEM Imaging Platform.

Для определения антибиотикочувствительности биоплёнок пластинки хитина переносили в пенициллиновые флаконы, содержащие двукратные разведения рекомендованных для лечения холеры антибактериальных препаратов в жидкой питательной среде (бульон Хоттингера, pH 7,7). В контрольные пробы с биоплёнкой антибактериальный препарат не добавляли. Через 24 ч инкубирования в термостате (37°С) делали отпечатки биоплёнок на пластинки с агаром Хоттингера (pH 7,7) и высев по 0,1 мл из планктонной культуры. Интерпретацию результатов проводили в соответствии с МУК 4.2.2495-09 и МУК 4.2.1890-04, определяя минимальные подавляющие концентрации (МПК) препаратов по наличию или отсутствию роста бактериальных клеток [17, 18].

Результаты исследования

Проведённые ранее исследования свидетельствуют, что токсигенные штаммы *V.cholerae* O1 El Tor при совместном культивировании с нетоксигенными *V.cholerae* O1 El Tor, штаммами *V.cholerae* O1 classical и другими представителями семейства Enterobacteriaceae способны образовывать полимикробные биоплёнки [19, 20]. В нашем исследовании наличие биоплёнок было подтверждено методом трансмиссионной электронной микроскопии.

При сравнительной оценке антибиотикочувствительности установлено, что планктонные культуры *V.cholerae* O1 classical 569 В, *V.cholerae* O1 classical 1392, *V.cholerae* O1 El Tor P-5879, *V.cholerae* nonO1/nonO139 30 обладали чувствительностью ко всем антибактериальным препаратам, взятым в исследование (табл. 1).

Как видно из табл. 1, штаммы *V.cholerae* El Tor 20000 и *Klebsiella* spp. в планктонной форме были устойчивы к триметоприму/сульфаметоксазолу и

Таблица 1. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении планктонных и мономикробных биоплёночных культур

Штамм микроорганизма	Антибактериальный препарат								
	Д	Т	Л	НК	С	А	Р	Ф	Т/С
Значения МПК для планктонных культур, мг/л									
<i>V.cholerae</i> O1 classical 569 B	0,25	0,5	1	1	4	4	1	4	2/10
<i>V.cholerae</i> O1 classical 1392	0,25	0,5	2	1	8	4	1	4	2/10
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor P-5879	0,25	0,5	1	1	4	4	1	4	2/10
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor 81	0,25	0,5	4	64	64	4	4	32	16/80
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor 20000	0,5	0,5	4	1	4	4	2	16	16/80
<i>V.cholerae</i> nonO1/nonO139 30	0,5	1	4	4	8	4	2	8	4/20
<i>Klebsiella</i> spp.	0,5	0,5	2	2	8	4	2	16	16/80
Значения МПК для биоплёночных культур, мг/л									
<i>V.cholerae</i> O1 classical 569 B	32	16	32	512	32	32	16	64	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 classical 1392	32	64	32	256	32	16	16	64	128/640
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor P-5879	64	16	256	512	128	128	64	512	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor 81	32	16	128	1024	256	128	128	512	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor 20000	16	32	128	512	32	16	128	64	1024/5120
<i>V.cholerae</i> nonO1/nonO139 30	8	32	32	64	32	16	16	64	1024/5120
<i>Klebsiella</i> spp.	32	16	256	1024	256	256	128	64	1024/5120

Примечание. Здесь и в табл. 2: Д – доксициклин; Т – тетрациклин; Л – левомицетин; НК – налидиксовая кислота; С – стрептомицин; А – ампициллин; Р – рифампицин; Ф – фуразолидон; Т/С – триметоприм/сульфаметоксазол.

Таблица 2. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении полимикробных биоплёночных культур

Штамм микроорганизма	Антибактериальный препарат								
	Д	Т	Л	НК	С	А	Р	Ф	Т/С
<i>V.cholerae</i> O1 classical 569 B + <i>Klebsiella</i> spp.	32	64	32	512	32	32	128	64	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor 81 + <i>Klebsiella</i> spp.	32	16	256	1024	256	256	128	1024	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor P-5879 + <i>Klebsiella</i> spp.	64	32	256	512	256	256	128	512	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor 20000 + <i>Klebsiella</i> spp.	32	32	128	512	64	256	128	64	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 classical 569 B + <i>V.cholerae</i> nonO1/nonO139 30	32	64	256	256	32	128	128	64	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 classical 1392 + <i>V.cholerae</i> nonO1/nonO139 30	32	8	16	512	32	256	128	64	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor 81 + <i>V.cholerae</i> nonO1/nonO139 30	32	32	256	1024	256	256	128	64	1024/5120
<i>V.cholerae</i> O1 El Tor P-5879 + <i>V.cholerae</i> nonO1/nonO139 30	32	32	256	512	32	16	16	64	1024/5120

фуразолидону, а *V.cholerae* O1 El Tor 81 ещё и к налидиксовой кислоте и стрептомицину.

В отношении мономикробных биоплёнок всех штаммов наблюдалось повышение МПК всех антибактериальных препаратов до значений, соответствующих устойчивым либо промежуточноустойчивым.

Следующим этапом было исследование действия различных антибактериальных препаратов на полимикробные биоплёнки.

Определение антибиотикочувствительности показало, что в большинстве случаев значения МПК антибактериальных препаратов полимикробных биоплёнок соответствовали значениям для биоплёночной формы более устойчивого микроорганизма, находящегося в составе монобиоплёнки (табл. 2).

По данным литературы, в полимикробных биоплёнках бактерии, более устойчивые к антибиотикам, защищают популяцию восприимчивых бактерий [21]. Однако в нашем исследовании в сообществе *V.cholerae* O1 classical 569 B + *Klebsiella* spp. увеличилась устойчивость культур к тетрациклину в 4–8 раз, а МПК левомицетина, ампициллина и стрептомицина оказалась на уровне более низких значений, характерных для

мономикробной биоплёнки, образованной штаммом *V.cholerae* O1 classical 569 B. Аналогично, для биоплёнки, образованной штаммами *V.cholerae* O1 El Tor P-5879 и *V.cholerae* nonO1/nonO139 30, значения МПК стрептомицина, ампициллина, рифампицина и фуразолидона также соответствовали более низким значениям этих антибактериальных препаратов для культур *V.cholerae* nonO1/nonO139 30 в составе мономикробного сообщества. Возможно, это связано с наличием между бактериями наряду с синергетическими, и антагонистическими взаимодействиями [22, 23]. В пределах смешанных биоплёнок лекарственная устойчивость зависит от способности сообщества к сотрудничеству таким образом, что оно может выжить после воздействия противомикробного вещества [24].

При формировании биоплёнки токсигенным классическим штаммом *V.cholerae* O1 classical 1392 совместно с *V.cholerae* nonO1/nonO139 30 в 8–32 раза, в сравнении со значениями для мономикробных биоплёнок этих культур, возросла устойчивость к ампициллину и рифампицину, а в биоплёнке *V.cholerae* O1 classical 569 B + *V.cholerae* nonO1/nonO139 30 — ещё и к левомицетину.

Заключение

Таким образом, в нашем исследовании эффективность антибактериальных препаратов в составе полимикробных сообществ различалась и зависела от вида бактерий, образующих биоплёнку. Устойчивость к большинству антибактериальных препаратов в составе смешанной биоплёнки соответствовала значениям этих препаратов для наиболее устойчивого в составе мономикробной биоплёнки штамма. В смешанных биоплёнках, образованных токсигенными классическими штаммами совместно с *V. cholerae* nonO1/nonO139 наблюдалось увеличение ус-

тойчивости к двум и трём препаратам, а совместно с *Klebsiella* spp. — к одному антибактериальному препарату.

Изменения антибиотикочувствительности при взаимодействии между бактериями в составе смешанной биоплёнки должны приниматься во внимание при разработке тактики профилактики и лечения инфекций. Дальнейшие более глубокие исследования чувствительности к антибактериальным препаратам бактерий в составе полимикробных биоплёнок позволят выявить закономерности, причины изменения антибиотикорезистентности и определить эффективные способы борьбы с биоплёнками.

ЛИТЕРАТУРА

1. Титова С. В., Меньшикова Е. А., Курбатова Е. М. Некоторые аспекты экологии холерных вибрионов. Вода: химия и экология. — 2018. — № 10–12. — С. 91–98. / Titova S. V., Men'shikova E. A., Kurbatova E. M. Nekotorye aspekty ekologii kholernykh vibriionov. Voda: Khimiya i Ekologiya 2018; 10–12: 91–98. [in Russian]
2. Андрусенко И. Т., Ломов Ю. М., Телесманич Н. Р., Акулова М. В., Москвитина Э. А. Гидробионтный фактор в эпидемиологии холеры. ЗНИСО. — 2009. — № 3. — С. 11–19. / Andrusenko I. T., Lomov Yu. M., Telesmanich N. R., Akulova M. V., Moskvitina E. A. Gidrobiontnyy Faktor v Epidemiologii Kholery ZNISO 2009; 3: 11–19. [in Russian]
3. Марков Е. Ю., Куликалова Е. С., Урбанович Л. Я., Вишняков В. С., Балахонов С. В. Хитин и продукты его гидролиза в экологии *Vibrio cholerae*. Биохимия. — 2015. — Т. 80. — № 9. — С. 1334–1343. / Markov E. Yu., Kulikalova E. S., Urbanovich L. Ya., Vishnyakov V. S., Balakhonov S. V. Khitin i produkty ego gidroliza v ekologii *Vibrio cholerae*. Biokhimiya 2015; 80: 9: 1334–1343. [in Russian]
4. Куликалова Е. С., Урбанович Л. Я., Марков Е. Ю., Вишняков В. С., Миронова Л. В., Балахонов С. В., Шкаруба Т. Т. Связь холерного вибриона с водными организмами и её значение в эпидемиологии холеры. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. — 2014. — № 4. — С. 19–25. / Kulikalova E. S., Urbanovich L. Ya., Markov E. Yu., Vishnyakov V. S., Mironova L. V., Balakhonov S. V., Shkaruba T. T. Svyaz kholernogo vibriona s vodnymi organizmami i ee znachenie v epidemiologii kholery. Epidemiologiya i Vaktsinoprofilaktika 2014; 4: 19–25. [in Russian]
5. Sun S., Tay Q. X., Kjelleberg S., Rice S. A., McDougald D. Quorum sensing-regulated chitin metabolism provides grazing resistance to *Vibrio cholerae* biofilm. SME J 2015 Aug; 9 (8): 1812–1820.
6. Madsen J. S., Burmölle M., Hansen H. L., Sørensen S. J. The interconnection between biofilm formation and horizontal gene transfer. FEMS Immunol Med Microbiol 2012; 65: 183–195.
7. Amato S. M., Fazen C. H., Henry T. C., Mok W. W., Orman M. A., Sandvik E. L., Brynildsen M. P. The role of metabolism in bacterial persistence. Frontiers in Microbiology 2014; 5: 70.
8. Conlon B. P., Rowe S. E., Lewis K. Persister cells in biofilm associated infections. Adv Exp Med Biol 2015; 831: 1–9.
9. Król J. E., Wojtowicz A. J., Rogers L. M., Heuer H., Smalla K., Krone S. M., Top E. M. Invasion of *E. coli* biofilms by antibiotic resistance plasmids. Plasmid 2013; 70 (1): 110–119.
10. Hoibya N. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. Int J Antimicrob Agents 2010; 35: 322–332.
11. Borgeaud S., Metzger L. C., Scrinari T., Blokesch M. The type VI secretion system of *Vibrio cholerae* fosters horizontal gene transfer. Science 2015; 347: 63–67.
12. Flemming H. C., Wingender J. The biofilm matrix. Nat Rev Microbiol 2010; 8 (9): 623–33.
13. Bradshaw D. J., Marsh P. D., Watson G. K., Allison C. Oral anaerobes cannot survive oxygen stress without interacting with facultative/aerobic species as a microbial community. Lett Appl Microbiol 1997; 25: 385–387.
14. Burmölle M., Webb J. S., Rao D., Hansen L. H., Sørensen S. J., Kjelleberg S. Enhanced Biofilm Formation and Increased Resistance to Antimicrobial Agents and Bacterial Invasion Are Caused by Synergistic Interactions in Multispecies Biofilms. Appl Environ Microbiol 2006; 72 (6): 3916–3923. [in Russian]
15. Селянская Н. А., Титова С. В., Головин С. А., Егиазарян Л. А., Веркина Л. М., Тришина А. В. Действие антибактериальных препаратов на би-

- оплёнки холерных вибрионов ЭльТор. ЖМЭИ. — 2017. — № 2. — С. 8–15. / Selyanskaya N. A., Titova S. V., Golovin S. A., Egiazaryan L. A., Verkina L. M., Trishina A. V. Deystvie antibakterial'nykh preparatov na bioplenki kholernykh vibriionov El'Tor. ZhMEI 2017; 2: 8–15. [in Russian]
16. Способ моделирования биоплёнок, формируемых *V. cholerae* O1 серогрупп на поверхности хитина: Патент РФ 2018103604 от 6.03.2019. / Sposob modelirovaniya bioplenok, formiruemyykh V.cholerae O1 serogrupp na poverkhnosti khitina: Patent RF 2018103604 от 6.03.2019. [in Russian]
17. Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллёз, сеп, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам: Методические указания МУК 4.2.2495–09. М.: 2009. / Opredelenie chuvstvitel'nosti vzbuditeley opasnykh bakterial'nykh infektsiy (chuma, sibirskaya yazva, kholera, tulyaremiya, brutsellez, sap, melioidoz) k antibakterial'nym preparatam: Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.2495–09. M.: 2009. [in Russian]
18. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания МУК 4.2.1890–04. М.: 2004. — 91 с. / Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam: Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.1890–04. M.: 2004; 91. [in Russian]
19. Водопьянов С. О., Титова С. В., Водопьянов А. С., Веркина Л. М., Олейников И. П., Писанов Р. В., Лысова Л. К., Селянская Н. А., Рыковская О. А. Изучение межвидовой конкуренции *Vibrio cholerae* в биоплёнках. ЗНИСО. — 2017. — № 3 (288). — С. 51–54. / Vodop'yanov S. O., Titova S. V., Vodop'yanov A. S., Verkina L. M., Olejnikov I. P., Pisanov R. V., Lysova L. K., Selyanskaya N. A., Rykovskaya O. A. Izuchenie mezvidovoy konkurentsii *Vibrio cholerae* v bioplenkakh. ZNISO 2017; 3 (288): 51–54. [in Russian]
20. Водопьянов С. О., Веркина Л. М., Водопьянов А. С., Олейников И. П., Егиазарян Л. А., Титова С. В. Анализ внутривидовой конкуренции в биоплёнке *Vibrio cholerae* классического и эльтор биоваров с помощью Indel-маркеров. Молекулярная диагностика. — 2017. — Т. 1. — С. 300–301. / Vodop'yanov S. O., Verkina L. M., Vodop'yanov A. S., Olejnikov I. P., Egiazaryan L. A., Titova S. V. Analiz vnutrividovoy konkurentsii v bioplenke *Vibrio cholerae* klassicheskogo i el'tor biovarov s pomoshch'yu Indel-markerov. Molekulyarnaya Diagnostika 2017; 1: 300–301. [in Russian]
21. Плакунов В. К., Николаев Ю. А., Ганнесен А. В., Чемаева Д. С., Журнина М. В. Новый подход к выявлению защитной роли *Escherichia coli* в отношении грамположительных бактерий при действии антибиотиков на бинарные биоплёнки. Микробиология. — 2019. — Т. 88. — № 3. — С. 288–296. / Plakunov V. K., Nikolaev Yu. A., Gannesen A. V., Chemaeva D. S., Zhurina M. V. Novyy podkhod k vyavleniyu zashchitnoy roli *Escherichia coli* v otnoshenii grampolozhitel'nykh bakteriy pri deystvii antibiotikov na binarnye bioplenki. Mikrobiologiya 2019; 88: 3: 288–296. [in Russian]
22. Periasamy S., Kolenbrander P. E. Aggregatibacter actinomycetemcomitans builds mutualistic biofilm communities with *Fusobacterium nucleatum* and *Veillonella* species in saliva. Infect Immun 2009; 77 (9): 3542–3551.
23. Elias S., Banin E. Multi-species biofilms: living with friendly neighbors. FEMS Microbiol Rev 2012; 36 (5): 990–1004.
24. Kara D., Luppens S. B., Cate J. M. Differences between single- and dual-species biofilms of *Streptococcus mutans* and *Veillonella parvula* in growth, acidogenicity and susceptibility to chlorhexidine. Eur J Oral Sci 2006; 114: 58–63.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Селянская Надежда Александровна — к. м. н., старший научный сотрудник лаборатории экспериментально-биологических моделей ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону

Меньшикова Елена Аркадьевна — к. б. н., старший научный сотрудник лаборатории экологии холеры ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону

Курбатова Екатерина Михайловна — научный сотрудник лаборатории экологии холеры ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону.

Головин Сергей Николаевич — младший научный сотрудник лаборатории биологической безопасности и лечения ООИ ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт, Ростов-на-Дону