

Чувствительность к антибактериальным препаратам биоплёнок, образованных штаммами холерных вибрионов различных серогрупп

*Н. А. СЕЛЯНСКАЯ, С. В. ТИТОВА, Е. А. МЕНЬШИКОВА,
В. Д. КРУГЛИКОВ, М. И. ЕЖОВА

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

Sensitivity to Antibacterial Drugs of Biofilms Formed by Strains of Cholera Vibrions of Various Serogroups

*NADEZHDA A. SELYANSKAYA, SVETLANA V. TITOVA, ELENA A. MENSNIKOVA,
VLADIMIR D. KRUGLIKOV, MARIYA I. YEZHOVA

Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia

Резюме

Способность *Vibrio cholerae* образовывать биоплёнки может вызвать неэффективность лечения и профилактики холеры. Цель исследования — определение антибиотикочувствительности *V.cholerae* в составе биоплёнок. Материал и методы. Определяли чувствительность к 11 антибактериальным препаратам биоплёнок 10 штаммов *V.cholerae* различных серогрупп, выделенных от человека и из воды, полученных в течение 48 ч при 37°C на пластинках во флаконах с водопроводной автоклавированной водой, заражённых взвесью 10⁴ микробных клеток *V.cholerae*. Для чего пластинки трёхкратно промывали в физиологическом растворе и переносили в пенициллиновые флаконы с двукратными разведениями антибактериальных препаратов в жидкой питательной среде (бульон Мартена, pH 7,7). Через 24 ч выращивания в термостате (37°C) делали отпечатки биоплёнок и высев 0,1 мл планктонной культуры на пластинки с агаром Мартена (pH 7,7). Результат учитывали через 24 ч, определяя минимальные подавляющие концентрации препаратов по наличию или отсутствию роста *V.cholerae*. Результаты. Изученные штаммы в составе биоплёночных сообществ, в отличие от планктонной формы, высокорезистентны ко всем антибактериальным препаратам, взятым в исследование, за исключением ципрофлоксацина и цефтазидима. Для повышения эффективности лечения холеры и других инфекций, возбудителями которых являются холерные вибрионы, необходимо определение антибиотикочувствительности биоплёнок *V.cholerae*.

Ключевые слова: *Vibrio cholerae*; биоплёнки; антибиотикочувствительность

Для цитирования: Селянская Н. А., Титова С. В., Меньшикова Е. А., Кругликов В. Д., Ежова М. И. Чувствительность к антибактериальным препаратам биоплёнок, образованных штаммами холерных вибрионов различных серогрупп. *Антибиотики и химиотер.* 2023; 68: 1–2: 16–21. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-16-21>.

Abstract

The ability of *Vibrio cholerae* to form biofilms may cause ineffectiveness of cholera treatment and prevention. The aim of the study was to determine the antibiotic sensitivity of *V.cholerae* in biofilms. Material and methods. Sensitivity to 11 antibacterial agents was determined for biofilms of 10 strains of *V.cholerae* of different serogroups isolated from humans and from water obtained for 48 hours at 37°C on plastic plates in vials with autoclaved tap water infected with a suspension of 10⁴ *V.cholerae* microbial cells. For this purpose the plates were washed three times in physiological solution and transferred into penicillin vials with double dilutions of antibacterial agents in liquid nutrient medium (Martin's broth, pH 7.7). After 24 hours of cultivation in the thermostat (37°C), the biofilms were imprinted and 0.1 ml of plankton culture was seeded onto plates with Marten's agar (pH 7.7). After 24 hours in the thermostat (37°C), the biofilms were imprinted and 0.1 ml of plankton culture was sown on plates with Marten's agar (pH 7.7). The result was counted after 24 h, determining the minimum suppressive concentrations of preparations by the presence or absence of *V.cholerae* growth. Results. The strains studied in biofilm communities, in contrast to the planktonic form, were highly resistant to all antibacterial drugs taken in the study, except for ciprofloxacin and ceftazidime. To improve the effectiveness of treatment of cholera and other infections whose causative agents are cholera vibrio, it is necessary to determine the antibiotic sensitivity of *V.cholerae* biofilms.

Keywords: *Vibrio cholerae*; biofilms; antibiotic sensitivity

For citation: Selyanskaya N. A., Titova S. V., Mensnikova E. A., Kruglikov V. D., Yezhova M. I. Sensitivity to antibacterial drugs of biofilms formed by strains of vibrio cholerae of various serogroups. *Antibiotiki i Khimioter = Antibiotics and Chemotherapy.* 2023; 68: 1–2: 16–21. <https://doi.org/10.37489/0235-2990-2023-68-1-2-16-21>.

© Коллектив авторов, 2023

*Адрес для корреспонденции: ул. М. Горького, 117/40, Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, г. Ростов-на-Дону, Россия, 344002.
E-mail: selyanskaya_na@antiplague.ru

© Team of Authors, 2023

*Correspondence to: 117/40 M. Gorky st., Rostov-on-Don Antiplague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, 344002 Russia. E-mail: selyanskaya_na@antiplague.ru

Введение

В последние годы внимание учёных привлечено к изучению микробных биоплёнок — высокоорганизованных сообществ, образованных микроорганизмами, клетки которых имеют специализацию, контактируют между собой, вырабатывают межклеточное вещество и отграничены от окружающей среды дополнительными оболочками. Было доказано, что биоплёнкообразование, наряду с другими неспецифическими механизмами, может участвовать в формировании антибиотикорезистентности бактерий. Система обмена информацией, экзополисахаридный матрикс и ряд физиологических особенностей, характерных для биоплёнок, делают микроорганизмы, включённые в их структуру, в 1000 раз менее чувствительными к антибактериальным препаратам, чем планктонные клетки [1].

В настоящее время активно изучается чувствительность биоплёнок различных микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Так, установлено, что биоплёнки ряда микробов слабо чувствительны к аминогликозидам [2] и бета-лактамам [3]. А некоторые антибактериальные препараты характеризуются хорошей пенетрацией в биоплёнки и высокой клинической эффективностью [4].

Способность холерных вибрионов образовывать биоплёнки в окружающей среде [5] и в организме человека [6, 7] способствует персистенции этих возбудителей. Поэтому важным залогом эффективности этиотропной терапии холеры является тестирование антибиотиков в отношении биоплёнок данного возбудителя.

В связи с этим, целью настоящего исследования стало определение чувствительности к антибактериальным препаратам холерных вибрионов в составе биоплёнок.

Материал и методы

В работе использованы штаммы *Vibrio cholerae*, имеющие различный набор детерминант патогенности: El Tor (6 штаммов), выделенные от больных (P-5879, 19667, 18826) и из воды (19613, 19241, 18904), клинические изоляты (ctx+) O139 серогруппы (16077, 16063) и *V.cholerae* non O1/ non O139 (16150 (ctx+), 19190 (ctx-)), полученные из Музея живых культур ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора.

Для определения действия антибактериальных препаратов на образовавшиеся сообщества, биоплёнки холерных вибрионов получали на пластиковых пластинках во флаконах с водопроводной автоклавированной водой (100 мл), заражённых взвесью 10^4 микробных клеток холерных вибрионов каждого штамма, способом, описанным ранее [8], в течение 48 ч при 37°C. На 3-и сутки культивирования пластинки с образовавшимися биоплёнками после трёхкратного промывания в физиологическом растворе переносили в пенициллиновые флаконы, содержащие двукратные разведения антибактериальных препаратов в жидкой питательной среде (бульон Мартена, pH 7,7). В контрольный флакон с биоплёнкой антибактериальный препарат не добавляли. Через 24 ч выращивания в термостате (37°C) делали отпечатки биоплёнок и высев 0,1 мл планктонной культуры на пластинки с агаром Мартена (pH 7,7). Результат учитывали через 24 ч, определяя минимальные подавляющие концентрации (МПК) препаратов по наличию или отсутствию роста холерных вибрионов. Отнесение культур к чувствительным/устойчивым проводили в соответствии с Критериями интерпретации результатов определения чувствительности *V.cholerae* [9].

В работе использованы препараты группы тетрациклинов (тетрациклин, доксициклин), хлорамфеникоол (левомецетин), рифампицин, аминогликозидов (стрептомицин, гентамицин), бета-лактамов (ампициллин, цефтазидим) —

Таблица 1. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении планктонных и биоплёночных культур клинических изолятов холерных вибрионов Эль Тор

Table 1. MPC values of antibacterials against planktonic and biofilm cultures of *V.cholerae* El Tor clinical isolates

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Штамм <i>V.cholerae</i> El Tor					
			P-5879		18826		19667	
	S*	R*	планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка
			средние значения МПК, мг/л					
Доксициклин	≤2,0	>4,0	0,3±0,1	21,3±5,3	1,3±0,3	10,7±2,7	1,3±0,3	21,3±5,3
Тетрациклин	≤4,0	>8,0	0,3±0,1	1,3±0,3	3,3±0,7	26,7±5,3	3,3±0,7	42,7±10,7
Хлорамфеникоол	≤4,0	≥16,0	0,8±0,2	42,7±10,7	21,3±5,3	85,3±21,3	170,2±42,7	426,6±85,3
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	3,3±0,7	53,3±10,7	192±80,6	426,7±85,3	85,3±21,3	682,7±170,7
Ципрофлоксацин	≤0,1	≥1,0	0,001±0,0003	0,001±0,0003	1,7±0,3	1,7±0,3	0,13±0,3	0,3±0,6
Стрептомицин	≤16,0	≥32,0	5,3±1,3	53,3±10,7	683±170	853,3±170	42,6±10,7	85,3±21,3
Гентамицин	≤4,0	>8,0	2,7±0,6	6,7±1,3	5,3±1,3	10,6±2,7	2,7±0,7	5,3±1,3
Ампициллин	≤4,0	≥16,0	2,7±0,7	53,3±10,7	85,3±21,3	106,7±21,3	213,3±42,7	426,6±65,3
Цефтазидим	<1,0	≥4,0	0,23±0,1	0,7±0,1	0,66±0,1	1,66±0,3	Нд	Нд
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	1,3±0,3	21,3±5,3	0,83±0,7	42,7±10,7	1,3±0,3	64,0
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/10,0	≥8,0/40,0	1,3±0,3	21,3±5,3	213,3±42,7	426±85,3	341,3±85,3	426,6±85,3

Примечание. Здесь и табл. 1–4: «Нд» — нет данных; * — S — чувствительный; R — устойчивый; ** — пограничные значения МПК (МУК 4.2.2495-09). Жирным шрифтом выделены достоверные отличия между МПК планктонной и биоплёночной культур.

Note. Here and Tables 1–4: Нд — no data; * — S — sensitive; R — resistant; ** — boundary values of MPC (MUK 4.2.2495-09). Bold font highlights significant differences between the MPC of planktonic and biofilm cultures.

отечественного производства; налидиксовая кислота (неви-грамон, Chinoip, Венгрия), ципрофлоксацин (квинтор, Тор-рент Фарм.ЛТД, Индия), триметоприм/сульфаметоксазол (би-котрим, Adgio, Индия), рекомендуемые для этиотропной терапии холеры [10].

Эксперименты повторяли три раза. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием статистических пакетов «Microsoft Office 2007» и «Statistica 6.0» для Windows XP. Достоверность полученных данных оценивали при уровне значимости $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Планктонная культура штамма *V.cholerae* El Tor P-5879 в соответствии с МУК 4.2.2495-09 обладала чувствительностью ко всем антибактериальным препаратам, взятым в исследование (табл. 1).

При сравнении антибиотикочувствительности планктонной и биоплёночной культур указанного штамма установлено, что средние значения МПК антибактериальных препаратов в отношении его биоплёнок увеличились в 2–50 раз. При этом было подтверждено статистически значимое ($p < 0,05$) повышение резистентности холерных вибрионов Эль Тор P-5879 в составе биоплёнки к хлорамфениколу, стрептомицину, ампициллину, триметоприму/сульфаметоксазолу (см. табл. 1).

Планктонные культуры штаммов *V.cholerae* El Tor 18826 и 19667 проявляли устойчивость к хлорамфениколу, стрептомицину, ампициллину, триметоприму/сульфаметоксазолу, налидиксовой кислоте, при сохранении чувствительности к тетрациклинам, гентамицину, цефтазидиму, ципрофлоксацину, рифампицину (см. табл. 1).

Установлено повышение значений МПК в отношении биоплёночных культур этих штаммов к тетрациклинам, гентамицину, налидиксовой кислоте, рифампицину в 4–7 и более раз по сравнению с планктонными культурами. *V.cholerae* El Tor 18826 и 19667 в составе биоплёнок достоверно

стали устойчивы к тетрациклинам и рифампицину (см. табл. 1).

Холерные вибрионы Эль Тор, выделенные из воды, в планктонной форме были чувствительны к тетрациклинам, хлорамфениколу, гентамицину, рифампицину, цефтазидиму и устойчивы к стрептомицину, ампициллину, триметоприму/сульфаметоксазолу, фуразолидону. Штаммы *V.cholerae* El Tor 19613 и 19241 проявляли резистентность к налидиксовой кислоте (табл. 2).

Средние значения МПК антибактериальных препаратов для биоплёнок, образованных этими штаммами, увеличились в 1,3–35 раз в сравнении с планктонными культурами (см. табл. 2). При этом в составе биоплёнок штаммы приобрели устойчивость к тетрациклинам, гентамицину, рифампицину, а *V.cholerae* El Tor 18904 — и к налидиксовой кислоте.

Планктонные культуры холерных вибрионов O139 серогруппы *V.cholerae* O139 16063 и 16077 оказались устойчивы к стрептомицину и триметоприму/сульфаметоксазолу (табл. 3).

Биоплёнки этих штаммов проявляли большую устойчивость к антибактериальным препаратам в сравнении с планктонными формами с повышением значений МПК в 1,5–48 раз. В соответствии с МУК 4.2.2495-09 биоплёночные культуры приобрели устойчивость к тетрациклинам, хлорамфениколу, налидиксовой кислоте, гентамицину, ампициллину, рифампицину (см. табл. 3).

Планктонная форма штамма *V.cholerae* non O1/non O139 16150 проявляла чувствительность ко всем антибактериальным препаратам, взятым в исследование, а штамм *V.cholerae* non O1/non O139 19190 был устойчив к стрептомицину и триметоприму/сульфаметоксазолу (табл. 4).

Биоплёночные культуры этих штаммов имели МПК антибактериальных препаратов в 2–20 раз

Таблица 2. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении планктонных и биоплёночных культур холерных вибрионов Эль Тор, выделенных из воды

Table 2. MPC values of antibacterials against planktonic and biofilm cultures of *V.cholerae* El Tor isolated from water

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Штамм <i>V.cholerae</i> El Tor					
			19613 (вода, ctx±)		19241 (вода, ctx±)		18904 (вода, ctx-)	
	S*	R*	планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка
средние значения МПК, мг/л								
Доксициклин	≤2,0	≥4,0	1,2±0,7	10,7±4,6	0,8±1,0	21,3±9,2	1,5±2,2	26,7±32,3
Тетрациклин	≤4,0	≥8,0	5,5±4,3	29,3±30,3	5,7±8,9	53,3±18,5	3,2±4,2	8,3±7,5
Хлорамфеникол	≤4,0	≥16,0	12,0±17,32	192,0±110,9	12,0±17,3	53,3±18,5	4,7±3,0	64,0
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	352,0±277,1	362,7±258,7	426,7±147,8	512,0	2,3±1,5	34,7±28,1
Ципрофлоксацин	≤0,1	≥1,0	0,53±0,45	0,83±0,29	0,37±0,23	0,67±0,29	0,004±0,002	0,04±0,01
Стрептомицин	≤16,0	≥32,0	66,7±60,0	128,0	53,3±18,5	106,7±36,9	5,3±2,3	42,7±18,5
Гентамицин	≤4,0	≥8,0	4,3±3,5	42,7±8,48	1,3±0,6	21,3±9,2	2,3±1,5	24,0±13,9
Ампициллин	≤4,0	≥16,0	25,3±33,5	181,3±129,3	5,3±2,3	106,7±36,9	24,0±13,9	74,7±48,9
Цефтазидим	<1,0	≥4,0	3,0±4,3	4,0±3,5	1,3±0,6	2,0±1,7	0,7±0,3	1,7±0,6
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	3,3±4,0	42,7±18,5	1,3±0,6	26,7±9,2	1,3±0,6	24,0±13,9
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/10,0	≥8,0/40,0	26,7±32,3	128,0	213,3±73,9	256,0	4,3±3,5	18,7±12,2

Таблица 3. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении планктонных и биоплёночных культур клинических изолятов *V.cholerae* O139

Table 3. MPC values of antibacterials against planktonic and biofilm cultures of *V.cholerae* O139 clinical isolates

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Штамм <i>V.cholerae</i> O139			
			16063		16077	
			планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка
	S*	R*	средние значения МПК, мг/л			
Доксициклин	≤2,0	≥4,0	8,0±7,9	26,7±9,2	1,75±2,0	3,33±4,0
Тетрациклин	≤4,0	≥8,0	1,3±0,6	13,3±4,6	1,33±0,6	12,0±6,9
Хлорамфеникол	≤4,0	≥16,0	8,0±6,9	384,0±221,7	2,7±1,2	53,3±18,5
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	11,3±17,9	139,0±158,4	1,3±0,6	22,7±16,2
Ципрофлоксацин	≤0,1	≥1,0	0,001±0,0005	0,16±0,3	0,004±0,005	0,33±0,3
Стрептомицин	≤16,0	≥32,0	13,3±4,6	106,7±129,3	26,7±9,2	170,7±73,9
Гентамицин	≤4,0	≥8,0	6,7±2,3	13,3±4,6	4,5±4,9	24,0±11,3
Ампициллин	≤4,0	≥16,0	10,7±4,6	85,3±36,9	5,3±2,3	48,0±27,7
Цефтазидим	<1,0	≥4,0	Нд	Нд	1,3±0,6	8,0±6,9
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	5,3±2,3	21,3±9,2	2,3±1,5	21,7±17,9
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/10,0	≥8,0/40,0	Нд	Нд	106,7±36,9	192,0±110,9

Таблица 4. Значения МПК антибактериальных препаратов в отношении планктонных и биоплёночных культур клинических изолятов *V.cholerae* non O1/non O139

Table 4. MPC values of antibacterials against planktonic and biofilm cultures of *V.cholerae* non O1/non O139 clinical isolates

Антибактериальный препарат	Пограничные значения МПК, мг/л**		Штамм <i>V.cholerae</i> non O1/non O139			
			16150		19190	
			планктон	биоплёнка	планктон	биоплёнка
	S*	R*	средние значения МПК, мг/л			
Доксициклин	≤2,0	≥4,0	2,0±1,7	17,3±14,0	1,3±0,6	3,3±4,0
Тетрациклин	≤4,0	≥8,0	4,0±3,5	21,3±9,2	6,7±8,0	8,7±7,0
Хлорамфеникол	≤4,0	≥16,0	3,3±1,1	32,0±27,7	3,7±3,8	24,0±13,9
Налидиксовая кислота	≤4,0	≥16,0	1,3±0,6	26,7±9,3	9,3±6,1	17,3±14,0
Ципрофлоксацин	≤0,1	≥1,0	0,001±0,0006	0,003±0,002	0,001±0,0006	0,002±0,0006
Стрептомицин	≤16,0	≥32,0	2,7±1,1	42,7±18,5	42,7±18,8	85,3±37,0
Гентамицин	≤4,0	≥8,0	1,33±0,6	3,7±3,8	3,3±4,0	18,7±12,2
Ампициллин	≤4,0	≥16,0	3,3±1,1	170,7±74,0	12,0±6,9	138,7±112,4
Цефтазидим	<1,0	≥4,0	0,8±0,3	3,7±3,8	0,7±0,3	1,7±0,6
Рифампицин	≤4,0	≥16,0	0,8±0,3	1,3±0,6	7,0±7,9	21,3±9,2
Триметоприм/сульфаметоксазол	≤2,0/10,0	≥8,0/40,0	0,8±0,3	10,7±4,6	33,3±30,0	74,7±48,9

большие, чем у планктонных форм. Биоплёнки штамма *V.cholerae* non O1/non O139 16150 стали достоверно устойчивы к тетрациклину, налидиксовой кислоте, стрептомицину, ампициллину, триметоприму/сульфаметоксазолу (см. табл. 4).

Таким образом, изученные штаммы *V.cholerae* El Tor, O139, non O1/non O139 в составе биоплёночных сообществ имели более высокие значения МПК антибактериальных препаратов в сравнении с планктонными формами, что согласуется с данными литературы о большей устойчивости биоплёнок микроорганизмов к действию антибиотиков [11]. При этом, по мнению некоторых исследователей, исход взаимодействия биоплёнки и антибиотика зависит не только от типа антибиотика и видовой принадлежности биоплёнокообразующих бактерий, но и от их штаммовых особенностей, а также от возраста биоплёнки, т. е. от параметров, которые могут определять химический состав и архитектуру матрикса [12].

Интересен факт нарастания устойчивости у изученных штаммов к хлорамфениколу, стреп-

томицину, триметоприму/сульфаметоксазолу и налидиксовой кислоте в биоплёночной форме при наличии резистентности к данным антибактериальным препаратам у планктонной формы. Это обстоятельство, на наш взгляд, подтверждает наличие в биоплёнках наряду с классическими типами устойчивости, характерными для планктонных форм бактерий, специфических вариантов резистентности, возникающих в биоплёнках, которые включают в себя инактивацию антибиотиков внеклеточными полимерами или ферментами, замедление метаболизма с последующим уменьшением количества мишеней для действия антибиотиков, экспрессию возможных генов резистентности, возникновение в биоплёнке микроорганизмов-персистентов. Биоплёнки имеют гетерогенный экзополисахаридный матрикс, который, образуя трёхмерную фильтрующую систему, угнетает доставку антибактериальных препаратов к бактериальным клеткам [13]. Резистентный фенотип клеток и сниженный метаболизм микро-

организмов в биоплёнке, который достигается за счёт их многослойной топографии, приводит к снижению антибиотикочувствительности [14]. По данным литературы, строение биоплёнок также способствует процессам обмена генетической информацией, в том числе резистентности к антимикробным химиопрепаратам [15]. По мнению некоторых исследователей, в отличие от планктонных клеток биоплёнка имеет другой фенотип, заключающийся в изменении параметров роста и экспрессии специфических генов [16]. Исследования показали, что в биоплёнках может возникнуть резистентность к ампициллину, тетрациклину, пенициллину, эритромицину и хлорамфениколу в результате взаимодействия между генами на плазмидах, последовательной индукции систем выброса на бактериальной хромосоме [17]. У *V.cholerae* описана возможность ослабления проницаемости для антибиотиков бактериальных оболочек [18]. Авторами был получен биоплёнкообразующий мутант с изменённой структурой порина OmpU, ведущей к гиперэкспрессии мембранной помпы MexCD-OprJ, который проявлял выраженную резистентность к цефалоспориновым антибиотикам.

Значения МПК ципрофлоксацина и цефтазидима в отношении биоплёночных культур холерных вибрионов либо не изменились, либо повысились незначительно в сравнении с планктонными культурами. При этом биоплёнки

всех штаммов сохраняли чувствительность к этим препаратам. По данным литературы, фторхинолоны оказывают ингибирующее действие на биоплёнки бактерий путём преодоления барьера липидных мембран и активного проникновения в микробные клетки-мишени [19].

Заключение

Полученные нами данные свидетельствуют, что антибиотикочувствительность штаммов *V.cholerae* El Tor, O139, non O1/non O139 в планктонной форме и в составе биоплёночных сообществ различается. Биоплёнки имели более высокую резистентность ко всем антибиотикам, взятым в исследование. Наибольшую активность в отношении биоплёночных культур холерных вибрионов продемонстрировали ципрофлоксацин и цефтазидим. Эти препараты занимают важное место в арсенале средств этиотропной терапии холеры [20, 21].

В настоящее время очевидно, что повышение эффективности лечения холеры и других инфекций, возбудителями которых являются холерные вибрионы, невозможно без тестирования антибиотиков на их эффективность в отношении биоплёнок. Результатом таких исследований должна стать разработка новых схем лечения, которые учитывают свойства антибиотиков и особенности строения биоплёнок возбудителя в зависимости от локализации патологического процесса.

Литература/References

1. Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Бактериальные биоплёнки как естественная форма существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина. Журнал микробиологии. 2011; 3: 99–109. [Romanova Yu.M., Gintsburg A.L. Bakterial'nye bioplenki kak estestvennaya forma sushchestvovaniya bakterij v okruzhajushchej srede i organizme khozyaina. Zhurnal Mikrobiologii. 2011; 3: 99–109. (in Russian)]
2. Sadovskaya I., Vinogradov E., Li J. et al. High-level antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm: the ndvB gene is involved in the production of highly glycerol-phosphorylated β -(1-3)-glucans, which bind aminoglycosides. Glycobiology. 2010; 20: 895–904. doi: 10.1093/glycob/cwq047. Epub 2010 Mar 26.
3. Farber B.E., Kaplan M.H., Clogston A.G. *Staphylococcus epidermidis* extracted slime inhibits the antimicrobial action of glycopeptides antibiotics. J Infect Dis. 1990; 161: 37–40. doi: 10.1093/infdis/161.1.37.
4. Mathur T., Singhal S., Khan S et al. Adverse effect of staphylococci slime on *in vitro* activity of glycopeptides. Jpn J Infect Dis. 2005; 58: 353–357.
5. Татаренко О.А., Алексеева Л.П., Телесманич Н.Р. и др. Влияние некоторых факторов на формирование биоплёнки токсигенными и атоксигенными холерными вибрионами эль-тор. Эпидемиология и инфекционные болезни. 2012; 5: 36–40. [Tatarenko O.A., Alekseeva L.P., Telesmanich N.R. i dr. Vliyanie nekotorykh faktorov na formirovanie bioplenki toksigennymi i atoksigennymi kholernymi vibrionami el'-tor. Epidemiologiya i Infektsionnye Bolezni. 2012; 5: 36–40. (in Russian)]
6. Маянский А.Н., Чеботарь И.В., Евтеева Н.И., Руднева Е.И. Межвидовое взаимодействие бактерий и образование смешанной (полимикробной) биоплёнки. Журнал микробиологии. 2012; 1: 93–101. [Mayanskij A.N., Chebotar' I.V., Evteeva N.I., Rudneva E.I. Mezvidovoe vzaimodejstvie bakterij i obrazovanie smeshanno (polimikrobnnoj) bioplenki. Zhurnal Mikrobiologii. 2012; 1: 93–101. (in Russian)]
7. Hay A.J., Zhu J. Host intestinal signal-promoted biofilm dispersal induces *Vibrio cholerae* colonization. Infect Immun. 2015; 83 (1): 317–323. doi: 10.1128/IAI.02617-14. Epub 2014 Nov 3.
8. Титова С.В., Кушнарева Е.В. Оценка способности холерных вибрионов к образованию биопленок *in vitro* с помощью нового методического подхода. Фундаментальные исследования. 2014; 10: 375–379. [Titova S.V., Kushnareva E.V. Otsenka sposobnosti kholernykh vibriionov k obrazovaniyu bioplenok *in vitro* s pomoshch'yu novogo metodicheskogo podkhoda. Fundamental'nye Issledovaniya. 2014; 10: 375–379. (in Russian)]
9. Определение чувствительности возбудителей опасных бактериальных инфекций (чума, сибирская язва, холера, туляремия, бруцеллёз, сеп, мелиоидоз) к антибактериальным препаратам. Методические указания МУ 4.2.2495-09. М.: 2009. [Opredelenie chuvstvitel'nosti vozbuditelej opasnykh bakterial'nykh infektsij (chuma, sibirskaya yazva, kholera, tulyaremiya, brutsellez, sap, melioidoz) k antibakterial'nyim preparatam. Metodicheskie Ukazaniya MU 4.2.2495-09. Moscow: 2009. (in Russian)]
10. Санитарно-эпидемиологические правила СП 3.1.1086-02. Профилактика холеры. Общие требования к эпидемиологическому надзору за холерой. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2002; 85. [Sanitarno-epidemiologicheskie pravila SP 3.1.1086-02. Profilaktika kholery. Obshchie trebovaniya k epidemiologicheskomu nadzoru za kholeroj. Moscow: Federal'nyj Tsent Gossanepidnadzora Minzdrava Rossii. 2002; 85. (in Russian)]
11. Фролова Я.Н., Харсеева Г.Г., Миронов А.Ю. Чувствительность к антибиотикам биоплёночных культур токсигенных штаммов *Corynebacterium diphtheriae*. Клиническая лабораторная диагностика. 2014; 59 (6): 51–53. [Frolova Ya.N., Kharseeva G.G., Mironov A.Yu. Chuvstvitel'nost' k antibiotikam bioplenochnykh kul'tur toksigennykh shtamov *Corynebacterium diphtheriae*. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika. 2014; 59 (6): 51–53. (in Russian)]
12. Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Кончакова Е.Д. и др. Антибиотикорезистентность биоплёночных бактерий. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2012; 14 (1): 51–58. [Chebotar' I.V., Mayanskij A.N., Konchakova E.D. i dr. Antibiotikorezistentnost' bioplenochnykh bakterij. Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya. 2012; 14 (1): 51–58. (in Russian)]

13. Туркутюков В.Б., Ибрагимова Т.Д., Фомин Д.В. Молекулярные особенности морфологии биоплёнок, формируемых штаммами неферментирующих грамотрицательных бактерий. Тихоокеанский медицинский журнал. 2013; 4: 44–47. [Turkutjukov V.B., Ibragimova T.D., Fomin D.V. Molekulyarnye osobennosti morfologii bioplenok, formiruemykh shtammami nefermentiruyushchikh gramnegativnykh bakterij. Tikhookeanskij Meditsinskij Zhurnal. 2013; 4: 44–47. (in Russian)]
14. Винник Ю.С., Серова Е.В., Андреев Р.И. и др. Особенности формирования микробных биоплёнок на различных субстратах. Возможность изучения биоплёнок на желчных конкрементах. Современные проблемы науки и образования. 2013; 5: 1–8. [Vinnik Yu.S., Serova E.V., Andreev R.I. i dr. Osobennosti formirovaniya mikrobnnykh bioplenok na razlichnykh substratakh. Vozmozhnost' izucheniya bioplenok na zhelchnykh konkrementakh. Sovremennye Problemy Nauki i Obrazovaniya. 2013; 5: 1–8. (in Russian)]
15. Harriott M.M., Noverr M.C. *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus* form polymicrobial biofilms: effects on antimicrobial resistance. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53 (9): 3914–3922. doi: 10.1128/AAC.00657-09. Epub 2009 Jun 29.
16. Габриэлян Н.И., Горская Е.М., Романова Н.И., Цирульников О.М. Госпитальная микрофлора и биоплёнки. Вестник трансплантологии и искусственных органов. 2012; 14 (3): 83–91. [Gabrielyan N.I., Gorskaya E.M., Romanova N.I., Tsirul'nikova O.M. Gospital'naya mikroflora i bioplenki. Vestnik transplantologii i iskusstvennykh organov. 2012; 14 (3): 83–91. (in Russian)]
17. May T., Ito A., Okabe S. Induction of multidrug resistance mechanism in *Escherichia biofilm* by interplay between tetracycline and ampicillin resistance genes. Antimicrob Agents Chemother. 2009; 53 (11): 4628–39.
18. Pagel M., Simonet V., Li J. et al. Phenotypic characterization of pore mutants of the *Vibrio cholerae* porin OmpU. J Bacteriol. 2007; 189 (23): 8593–600.
19. Голуб А.В. Бактериальные биоплёнки — новая цель терапии? Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2012; 14 (1): 23–29. [Golub A.V. Bakterial'nye bioplenki — novaya tsel' terapii? Klinicheskaya Mikrobiologiya i Antimikrobnaya Khimioterapiya. 2012; 14 (1): 23–29. (in Russian)]
20. Luo Y., Ye J., Jin D. et al. Molecular analysis of non-O1/non-O139 *Vibrio cholerae* isolated from hospitalized patients in China. BMC Microbiol. 2013; 13: 52. doi: 10.1186/1471-2180-13-52.
21. George N., Fredrick E., Mohapatra A. et al. Non-O1, non-O139 *Vibrio cholerae* sepsis in a patient with nephrotic syndrome. Indian J Nephrol. 2013; 23 (5): 378–380. doi: 10.4103/0971-4065.116329.

Информация об авторах

Селянская Надежда Александровна — к. м. н., старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия. ORCID: 0000-0002-0008 4705

Титова Светлана Викторовна — к. м. н., ведущий научный сотрудник лаборатории природно-очаговых и зоонозных инфекций ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора, Ростов-на-Дону, Россия

Меньшикова Елена Аркадьевна — к. б. н., старший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора Ростов-на-Дону, Россия

Кругликов Владимир Дмитриевич — д. м. н., главный научный сотрудник, начальник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора Ростов-на-Дону, Россия

Ежова Мария Ивановна — младший научный сотрудник отдела микробиологии холеры и других острых кишечных инфекций, ФКУЗ Ростовский-на-Дону противочумный институт Роспотребнадзора Ростов-на-Дону, Россия

About the authors

Selyanskaya Nadezhda Alexandrovna — Ph. D. in Medicine, Senior researcher department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Anti plague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia. ORCID: 0000-0002-0008 4705

Svetlana V. Titova — Ph. D. in Medicine, Leading researcher at the Laboratory of Natural Focal and Zoonotic Infections, Rostov-on-Don Anti plague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Rostov-on-Don, Russia

Elena A. Menshikova — Ph. D. in Biology, Senior researcher department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Anti plague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Russia

Vladimir D. Kruglikov — D. Sc. in Medicine, Chief researcher department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Anti plague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Russia

Mariya I. Yezhova — Junior researcher department of microbiology of cholera and other acute intestinal infections, Rostov-on-Don Anti plague Scientific Research Institute of Rospotrebnadzor, Russia