

БИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

BIOLOGICAL SCIENCES

DOI: 10.12731/2658-6649-2023-15-6-957

УДК 579.61



Научная статья

ОЦЕНКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* И *ESCHERICHIA COLI* ОТНОСИТЕЛЬНО РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ НА МОДЕЛЯХ ПЛАНКТОННЫХ КЛЕТОК И БИОПЛЕНОК

**З.Г. Хабаева, Ф.А. Агаева, Д.А. Марзоева,
А.А. Бурнацева, В.Д. Бутхудзе**

Осуществляли оценку резистентности *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* на двух экологических моделях: планктонные клетки и биопленки. В качестве растительных препаратов использовали 8 официальных лекарственных растений с выраженными антибактериальными и противовоспалительными свойствами, приобретенными в аптечной сети, производство ЗАО «Красногорсклексредства» и собранными на территории Северной Осетии-Алании. Антибиопленочную активность определяли у чеснока посевного (*Allium sativum*) и тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris*). Использовали выжимки из зеленой массы растений, спиртовые настойки.

Степень выраженности антибактериальной активности тестируемых препаратов определяли стандартизированным методом Керби-Бауэра. Для создания искусственной биопленки были использованы метод изолированной биопленки и метод культивирования статических биопленок в жидкости; для оценки относительных показателей их роста осуществляли окрашивание генцианом фиолетовым.

Проведенные исследования (выжимки из зеленой массы растений) относительно культуры *Staphylococcus aureus* выявили либо отсутствие зоны задержки роста (сосна обыкновенная, туя западная) либо наличие малой чувствительности планктонных клеток к тестируемым препаратам. При

использовании сухой массы лекарственных аптечных препаратов (спиртовые настойки) антибактериальная активность по отношению к планктонным клеткам *Staphylococcus aureus* была выявлена у экстрактов чеснока посевного и тимьяна обыкновенного (высокая), мать-и-мачехи и эвкалипта прутовидного (достаточная). Штаммы *Escherichia coli* оказались устойчивы по отношению практически ко всем тестируемым препаратам (отсутствие задержки роста, либо малая чувствительность). Антибиопленочная активность проявлялась только на стадии роста (устойчивая адгезия) при использовании экстрактов чеснока посевного и тимьяна обыкновенного по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*.

Ключевые слова: растительные экстракты; биопленки; резистентность к антибиотикам

Для цитирования. Хабаева З.Г., Агаева Ф.А., Марзоева Д.А., Бурнацева А.А., Бутхудзе В.Д. Оценка резистентности *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* относительно растительных экстрактов на моделях планктонных клеток и биопленок // Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2023. Т. 15, №6. С. 11-28. DOI: 10.12731/2658-6649-2023-15-6-957

Original article

EVALUATION OF THE RESISTANCE OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AND *ESCHERICHIA COLI* REGARDING PLANT EXTRACTS ON MODELS OF PLANKTONIC CELLS AND BIOFILM

**Z.G. Khabaeva, F.A. Agaeva, D.A. Marzoeva,
A.A. Burnatseva, V.D. Butkhudze**

The resistance of Staphylococcus aureus and Escherichia coli was assessed using two ecological models: planktonic cells and biofilms. As herbal preparations, 8 official medicinal plants with pronounced antibacterial and anti-inflammatory properties, purchased in the pharmacy network, produced by ZAO Krasnogorskleksredstva and collected in North Ossetia-Alania, were used. Antibiofilm activity was determined in common garlic (Allium sativum) and common thyme (Thymus vulgaris). Used pomace from the green mass of plants, alcohol tinctures.

The severity of the antibacterial activity of the tested preparations was determined by the standardized Kerby-Bauer method. To create an artificial biofilm, the method of isolated biofilm and the method of culturing static biofilms in liquid

were used; to assess the relative growth rates, staining with gen-cyan violet was carried out.

The conducted studies (pomace from the green mass of plants) in relation to the culture of *Staphylococcus aureus* revealed either the absence of a zone of growth inhibition (*Pinus sylvestris*, *Thuja occidentalis*) or the presence of a low sensitivity of planktonic cells to the tested preparations. When using the dry mass of pharmaceutical preparations (alcohol tinctures), antibacterial activity against planktonic *Staphylococcus aureus* cells was detected in extracts of garlic and common thyme (high), coltsfoot and eucalyptus rod (sufficient). *Escherichia coli* strains were resistant to almost all tested drugs (no growth retardation or low sensitivity). Antibiofilm activity was manifested only at the growth stage (stable adhesion) when using extracts of garlic and common thyme in relation to *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keywords: plant extracts; biofilms; antibiotic resistance

For citation. Khabaeva Z.G., Agaeva F.A., Marzoeva D.A., Burnatseva A.A., Butkhudze V.D. Evaluation of the Resistance of *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia Coli* Regarding Plant Extracts on Models of Planktonic Cells and Biofilm. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*, 2023, vol. 15, no. 6, pp. 11-28. DOI: 10.12731/2658-6649-2023-15-6-957

Введение

Современные представления о природных и искусственных сообществах бактерий претерпели значительные изменения с открытием более 30 лет назад специфической формы их существования в виде биопленки. Ранее доминировала точка зрения о наличии только планктонной формы бактерий, при которой отдельные клетки могли свободно перемещаться в водной среде. Сегодня известно, что порядка 99% микроорганизмов находятся в природной среде в иммобилизованном состоянии, при котором клетки прикрепляются к твердым поверхностям, образуя плотно соединенные с друг другом специфические образования – биопленки [5-7]. Биопленка представляет собой колонии микроорганизмов, которые расположены во внеклеточном матриксе, состоящим из полисахаридов, ДНК и других компонентов и соприкасаются с субстратом природного или искусственного происхождения [1, 3, 6].

Имеющиеся на сегодняшний день данные свидетельствуют о значительных изменениях функциональных свойств микроорганизмов, образующих конгломераты на границе раздела двух сред: твердой и жидкой [9, 11]. Существенно повышается устойчивость бактериального сообщества биопленки по отношению к антибиотикам. По сравнению с планктонны-

ми клетками (клетки в суспензии) сидячие клетки часто гораздо более устойчивы к антимикробным агентам, и эта повышенная устойчивость оказывает значительное влияние на лечение инфекций, связанных с биопленками. Образование биопленок часто считается основной причиной неудач лечения антимикробными препаратами, и поскольку, по оценкам 65–80% всех инфекций связаны с биопленками, это представляет собой серьезную проблему. Биопленка, вероятно, задействует несколько механизмов, обеспечивающих устойчивость к противомикробным препаратам, включая изменения в химической среде внутри биопленки, приводящие к образованию зон медленного роста или его отсутствия; адаптивные реакции на стресс; и наличие небольшой популяции чрезвычайно устойчивых «персистирующих» клеток [2, 14, 16].

Такого рода данные определяют необходимость поиска препаратов, обладающих высокой антибактериорезистентностью и в тоже время не способных разрушать рядом лежащие клетки и ткани. Растительные лекарственные препараты имеют преимущества в связи с их собственной низкой токсичностью, возможностью применять различные их комбинации в виде сборов из самих растений, их экстрактов и вторичных метаболитов. Отсюда актуальность исследования бактериорезистентности биопленок относительно растительных препаратов с известными антимикробными свойствами.

Материал и методы исследования

В качестве растительных препаратов использовали экстракты из хвойных и лекарственных растений с выраженными антибактериальными и противовоспалительными свойствами, приобретенными в аптечной сети, производство ЗАО «Красногорсклексредства», Россия. (табл. 1, 2). В качестве тест-систем использовали музейные штаммы *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*.

Применяли два метода приготовления растительных экстрактов: выжимку из зеленой массы хвойных растений (хвоя) и спиртовые настойки (аптечные препараты). Сбор растительного сырья (хвойные растения) для приготовления экстрактов производился в экологически благоприятных районах Республики Северной Осетии-Алании в период с сентября по октябрь 2021 г. Приготовление выжимок осуществляли в день сбора растительного сырья.

Приготовление выжимок из хвойной массы. Хвою растений тщательно промывали проточной водой для удаления частиц земли и пыли. Затем хвойную массу высушивали в тени при комнатной температуре в течение 24 часов. Далее растительное сырье измельчали и взвешивали.

Исходный вес растительного сырья составлял 10г. Получившуюся массу доводили в ступке до кашицеобразного состояния. Полученную смесь отжимали через ватно-марлевый фильтр. В работе использовали отфильтрованную жидкость.

Приготовление настоек. Предварительно подготовленное аптечное сырье (сырье максимально измельчали) взвешивали на весах. Масса растительного сырья составляла 25 г. Далее помещали растительный материал в колбу и заливали спиртом в количестве 140 г; оставляли настаиваться на 2 суток. После отстаивания экстракт фильтровали в круглодонную колбу. Далее спирт отгоняли на роторном испарителе.

Оценку антибактериальной активности растений с известными противовоспалительными и противомикробными свойствами осуществляли на двух микробиологических моделях *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* стандартизированным методом Керби-Бауэра [8]. Стандартные диски пропитывали приготовленными препаратами и помещали в чашки Петри с бактериальными культурами. Степень чувствительности микроорганизмов к фитопрепаратам определяли путем измерения диаметра зоны задержки роста (малая - >14 мм, промежуточная (достаточная)-15-25 мм, высокая - >25 мм). Культивирование проводили на мясо-пептонном агаре (МПА).

Для создания искусственной биопленки были использованы метод изолированной биопленки [12, 15] и метод культивирования статических биопленок в жидкости [4].

Суть *метода изолированной биопленки* заключается в получении зрелой биопленки на подложке. В качестве подложки были использованы бумажные диски с размером пор 0,22 мкм и диаметром - 16 мм. Предварительно диски помещались в чистую чашку Петри для стерилизации ультрафиолетом (каждая сторона диска обрабатывалась УФ - лучами в течение 10 мин). Далее диски помещали на поверхность агаризованной среды в чашки Петри. На каждый диск наносили по 5 мкл инокулята, стандартизованного по оптической плотности (конечная концентрация 10^6 клеток/мл). После подсыхания поверхности при комнатной температуре в течении 15 минут, чашки переворачивали и помещали в термостат на 48 часов при 37°C. Следующим шагом было перемещение дисков с биопленкой на питательную среду с антибиотиком или растительным экстрактом. По характеру дальнейшего роста или его отсутствия судили о действии исследуемого вещества [15].

При использовании метода *культивирования статических биопленок в жидкостях* бактериальные клетки из свежей культуры инкубировали в жидкой питательной среде МПБ (мясо-пептонный бульон) в течение 24 ч при

37°C в стационарных условиях. После инкубации культуру разводили (1:100) свежей средой МПБ. Из этой разбавленной культуры 100 мкл инокулировали в отдельные лунки стерильного полистирола. МПБ (200мкл) без клеток служили отрицательным контролем для проверки стерильности и неспецифического связывания сред [4]. Определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) и минимальных бактерицидных концентраций (МБК) растительных экстрактов осуществляли путем добавления в лунки планшета с МПБ 100 мкл экстрактов растений или известных антибиотиков [4].

Планшеты с культурой инкубировали в течение 24 ч при 37°C. После инкубации содержимое каждой лунки осторожно удаляли путем медленного пипетирования и постукивания по планшетам. Лунки промывали четыре раза PBS (pH = 7,3) для удаления свободно плавающих планктонных бактерий и сушили на воздухе. Затем лунки фиксировали 2% ацетатом натрия в течение 5 мин и окрашивали 0,1% кристаллическим фиолетовым в течение 15 мин, тщательно и многократно промывали дистиллированной водой. Планшеты переворачивали на фильтровальную бумагу и высушивали при комнатной температуре 40 минут и делали снимки окрашенных лунок. Прикрепление красителя ко дну лунки свидетельствовало об образовании биопленки. Для оценки относительных показателей роста биопленки использовали метод окрашивания биопленок генцианом фиолетовым (рис. 1).

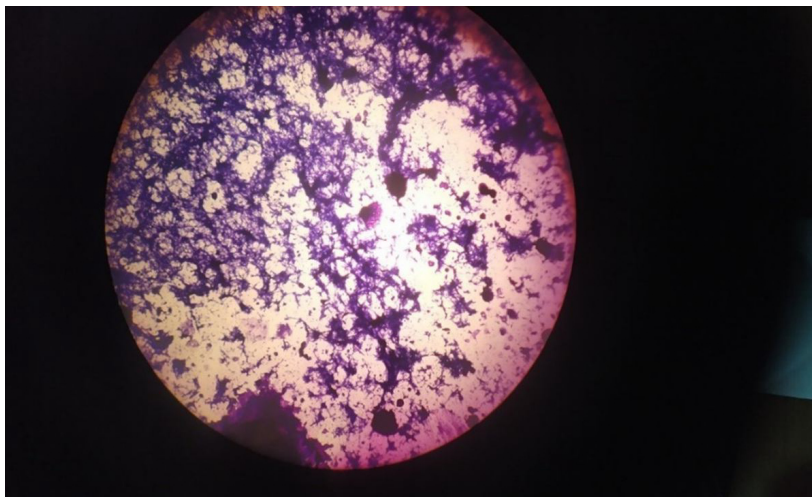


Рис. 1. Фрагмент культивируемой биопленки в планшете (увеличении 100x)

В работе были использованы Микроскоп биологический Микромед 2, Видеоокуляр TourCam UCOS05100KPA. Статистическую обработку данных проводили по критерию Стьюдента для некоррелированных выборок при помощи программного обеспечения MS Excel 2016.

Результаты исследования и их обсуждение

Определение резистентности микроорганизмов первоначально осуществляли с использованием выжимок хвойной массы туи западной, пихты норманда, разных видов елей и сосны. Проведенные исследования относительно культуры *Staphylococcus aureus* выявили либо отсутствие зоны задержки роста (сосна обыкновенная, туя западная) либо наличие малой чувствительности планктонных клеток к тестируемым препаратам (табл. 1).

У планктонных клеток *Escherichia coli* в этих условиях наблюдения малая чувствительность проявлялась только по отношению к сосне веймутова, ели колочей и обыкновенной; в остальных случаях наблюдали отсутствие задержки роста.

Таблица 1.

Антибактериальная активность хвойных растений на диффузных бактериальных культурах *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*

Тестируемые растения (хвойные)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
	1:10	1:10
Сосна обыкновенная (<i>Pinus sylvestris</i>)	6±0 n=3	6±0 n=3
Сосна веймутова (<i>Pinus strobus</i>)	6±0 n=3	7,3±0,5 n=3
Сосна крымская (<i>Pinus nigra subsp</i>)	7,2±0.4 n=3	6±0 n=3
Ель колочая (<i>Picea pungens</i>)	6±0 n=3	7±0 n=3
Ель обыкновенная (<i>Picea abies</i>)	9,8±0.7 n=3	7,6±1.4 n=3
Туя западная (<i>Thuja occidentalis</i>)	6±0 n=3	6±0 n=3
Пихта норманда (<i>Abies nordmanniana</i>)	13,3±0,8 n=3	6±0 n=3
Биота восточная (<i>Platyclusus orientalis</i>)	6±0 n=3	6±0 n=3

Примечание: М - среднее арифметическое значение, m-ошибка репрезентативности, n – количество чашек Петри с бактериальными культурами; 6±0– диаметр диска (отсутствие задержки роста)

Для приготовления спиртовых настоек использовали сухую массу аптечных препаратов. Количественные параметры их антибактериальной активности на диффузной бактериальной культуре *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* представлены в таблице 2.

Таблица 2.

Антибактериальная активность исследуемых веществ на планктонных клетках

Тестируемое вещество	<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Escherichia coli</i>		
	Диаметр зоны задержки роста (мм.)					
	1:10000	1:100000	1:1000000	1:10000	1:100000	1:1000000
Стат. показ.	M±m			M±m		
Спирт мед.	7±0 n=3			7±0 n=3		
Мать-и-Мачеха	25±4 n=5	23,3±3 n=5	22,8±2,1 n=5	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3
Эвкалипт прутовидный	15,5±2 n=5	15,9±2 n=5	16±1,7 n=5	Зона задержки роста заросла одиночными клетками		
Полыни горькой трава	Зона задержки роста заросла одиночными клетками			6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3
Липы цветки	10,5±0,3 n=5	16,87±0,4 n=5	16±0,5 n=5	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3
Ромашка аптечная	14,5±0,4 n=3	13,83±0,3 n=5	11,7±0,6 n=5	6±0 n=3	8,67±0,6 n=3	6±0 n=3
Хвощ полевой	6±0 n=3	8,67±0,6 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3
Горец птичий	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3
Подорожник большой	15,3±2,1 n=5	10±1,1 n=5	10,5±1,8 n=5	9,67±0,46 n=3	8,33±0,6 n=3	6±0 n=3
Шалфей лекарственный	10,2±2,1 n=5	10,7±1,9 n=5	14,8±1,7 n=5	6±0 n=3	6±0 n=3	6±0 n=3
Чеснок посевной	25,4±1,5 n=5	30,2±0,8 n=5	36±3,5 n=5	24±2,3 n=5	29±2,1 n=5	33±2 n=5
Тимьян обыкновенный	25,8±1,9 n=5	31,4±3,9 n=5	35±2,9 n=5	25,4±1,1 n=5	26,6±1,7 n=5	29,8±1,6 n=5

M - среднее арифметическое значение, m-ошибка репрезентативности, n – количество чашек Петри с бактериальными культурами; 6±0 – диаметр диска (отсутствие задержки роста)

Наиболее значимые значения зоны задержки роста *Staphylococcus aureus* наблюдали при использовании настоек из аптечных препаратов чеснока посевного, тимьяна обыкновенного, мать-и-мачехи, эвкалипта

прутовидного. В соответствии с этими данными у чеснока посевного и тимьяна обыкновенного проявлялась высокая (М больше 24 мм) антибиотикорезистентность (рис. 2).

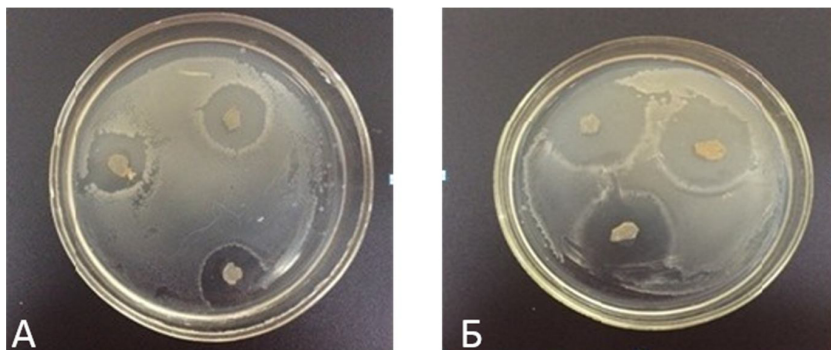


Рис. 2. Действие экстракта чеснока посевного на *Staphylococcus aureus* (А) и *Escherichia coli* (Б)

Значения зоны задержки роста при использовании растительного препарата из мать-и-мачехи составили $22,8 \pm 2,1$ - 25 ± 4 мм, что соответствует промежуточной чувствительности *Staphylococcus aureus* к данному препарату. Такой же характер антибактериальной активности был характерен для экстрактов из эвкалипта прутовидного.

У цветов липы и подорожника большого активность варьировала от малой до достаточной чувствительности. Для остальных тестируемых растительных экстрактов (за исключением горца птичьего) обнаружена малая чувствительность по отношению к *Staphylococcus aureus* (табл. 2).

Активность растительных экстрактов по отношению к *Escherichia coli* практически не выявлялась: зона задержки роста при использовании экстрактов ромашки аптечной и подорожника большого была меньше 15 мм, что свидетельствует о малой чувствительности микроорганизмов к данным препаратам; обнаруживаемое во всех остальных случаях отсутствие зоны задержки роста говорит об устойчивости к ним *Escherichia coli* (рис. 3).

Для оценки антибиопленочной резистентности роста *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* использовали экстрактивные вещества группы растений, полученных путем спиртовых настоек: шалфей лекарственный, подорожник большой, горец птичий, цветки липы, полыни горькой,

эвкалипта прутовидного, мать-и-мачехи. Определение антибиотикорезистентности препаратов осуществляли на стадии роста биопленки (стадии адгезии планктонных клеток) и стадии зрелой биопленки (на 4 день культивирования).

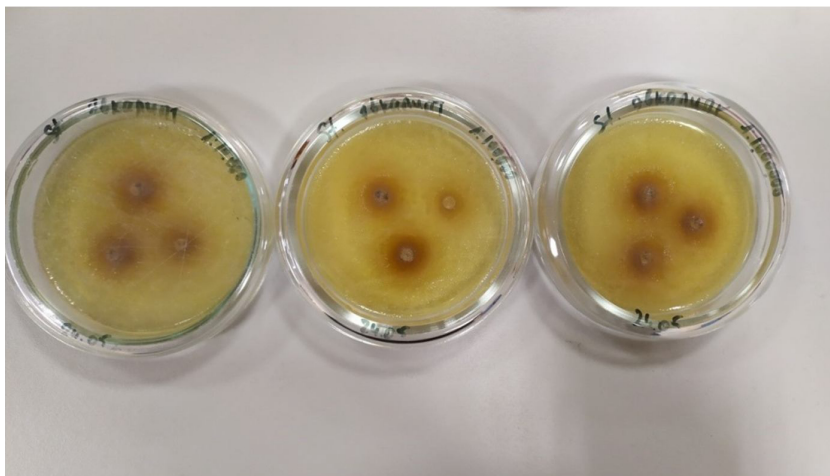


Рис. 3. Действие экстракта эвкалипта прутовидного на *Escherichia coli* (отсутствие задержки роста)

У большинства тестируемых растений не выявили антибиопленочной активности уже на стадии роста и размножения микроорганизмов (рис. 4, 5). На данном этапе наблюдали формирование матрикса биопленки, представляющей собой комплекс полисахаридов и др. высокомолекулярных соединений, фиксируемых красителем и отражающих стадию вторичной адгезии (рис. 4). В соответствии с литературными источниками матрикс состоит из богатого питательными веществами слоя, поддерживающего быстрый рост микроорганизмов со сложным комплексом диффузионных каналов, обеспечивающих транспортировку питательных веществ, кислорода и других компонентов, необходимых для роста бактерий, а также для удаления продуктов жизнедеятельности и мертвых клеток [10], [13], [17].

Определение МПК (минимальная подавляющая концентрация исследуемого вещества), которую осуществляли после инкубации биопленки выполняли визуально, фиксируя отсутствие (или наличие) видимого роста микроорганизмов.

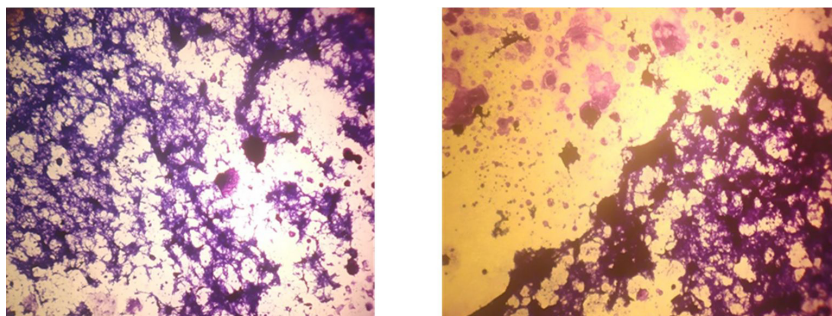


Рис. 4. Состояние матрикса в планшете с *Escherichia coli* после культивирования с экстрактом шалфея (светлопольная микроскопия (100x), окраска кристаллическим фиолетовым)

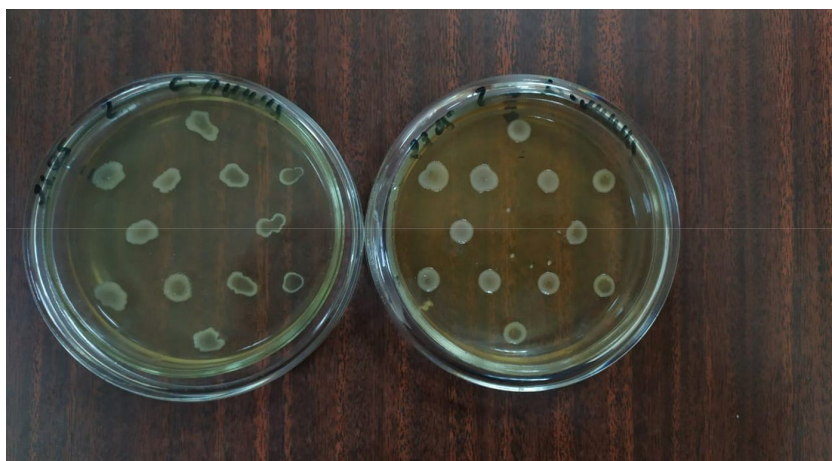


Рис. 5. Визуальное изображение биопленки *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli* под действием растительного экстракта

На рисунке представлены действие экстракта шалфея на биопленку (*Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*). Процесс активного образования матрикса на стадии роста биопленки свидетельствует об отсутствии антибиотикорезистентности тестируемых препаратов.

Антибиопленочная активность была выявлена только при использовании экстрактов чеснока посевного и тимьяна обыкновенного. Анализ действия этих препаратов на стадии необратимой адгезии формирования биопленки выявил наличие их выраженного бактерицидного действия. В

соответствии с методикой вносили в лунки планшета определенные концентрации растительных экстрактов и делали посев на питательную среду по шаблону. Оценка МПК и МБК (минимальная бактерицидная концентрация препарата, вызывающая гибель 99,99% микроорганизмов) позволила определить количественное проявление антибиопленочной активности растительных препаратов [4]. Так, для *Staphylococcus aureus* МБК и МПК чеснока посевного и тимьяна обыкновенного составили 0,5 и 0,25 мг/мл соответственно (рис. 6); для *Escherichia coli* МПК и МБК чеснока посевного составили 0,25 мг/мл, для тимьяна обыкновенного показатели МПК были равны 0,25 мг/мл, а МБК - 0,5 мг/мл.

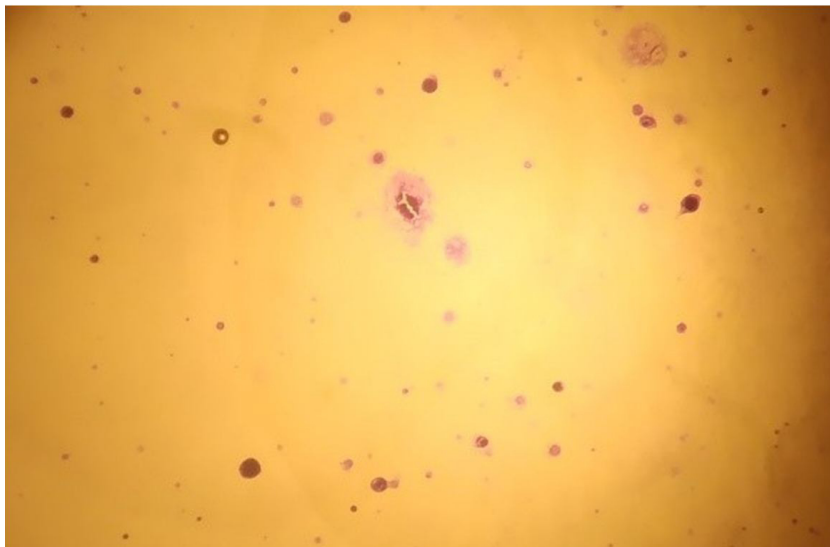


Рис. 6. Состояние матрикса в планшете с *Staphylococcus aureus* после культивирования с экстрактом тимьяна обыкновенного (светлополюсная микроскопия (100x), окраска кристаллическим фиолетовым)

Для контроля полученных результатов использовали известные своими антибиопленочными свойствами лекарственные препараты (*Vancomycin* и *Azithromycin*) и оценивали их активность на тех же стадиях развития биопленки. Для *Staphylococcus aureus* МПК и МБК ванкомицина составили 62,5 мкг/мл и 125 мкг/мл соответственно, азитромицин – МБК-3,9 мкг/мл, МПК-1,9 мкг/мл. Для *Escherichia coli* МПК ванкомицина составил 15,625 мкг/мл и МБК - 31,25 мкг/мл. МПК и МБК азитромицина были равны и составили 0,48мкг/мл.

Таким образом, МПК и МБК тестируемых растительных экстрактов в десятки и сотни раз превышают данные показатели для антибиотиков. Такого же рода данные представлены в работе Д.В Тапальского с соавт. (2018).

Более высокие МПК и МБК у растительных экстрактов предполагают необходимость более высоких концентраций при их использовании. Такая закономерность достаточно объективна, т.к. растительные препараты по своей сути чаще используются для профилактики заболеваний в донозологические периоды развития патологии, либо в качестве дополнительных фитопрепаратов к основным антибиотикам.

Антибиотики (ванкомицин и азитромицин) на стадии зрелой биопленки (оценивали путем измерения диаметра роста на диске) активно подавляли рост *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Растительные экстракты на данной стадии развития биопленки были неактивны.

Выводы

1. Экстракты хвойной массы, полученные путем выжимки, демонстрировали либо малую антибактериальную активность, либо ее отсутствие как по отношению к *Staphylococcus aureus*, так и к *Escherichia coli*.

2. При использовании спиртовых настоек из сухих аптечных препаратов выявлена высокая антибактериальная активность у экстрактов чеснока посевного и тимьяна обыкновенного, достаточная активность для экстрактов мать-и-мачехи и эвкалипта прутовидного (по отношению к *Staphylococcus aureus*). Антибактериальная активность чеснока в значительной степени приписывается аллицину. Антимикробные свойства тимьяна обыкновенного обусловлены эфирным маслом (тимол и карвакрол).

3. Антибиопленочная активность проявлялась только на стадии роста (устойчивая адгезия) при использовании экстрактов чеснока посевного и тимьяна обыкновенного по отношению к *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*.

Список литературы

1. Малафеева Э.В., Гульнева М.Ю. Формирование биоплёнок оппортунистическими микроорганизмами // Научное обозрение. Медицинские науки. 2020. № 4. С. 65-69.
2. Плакунов В.К. Управление формированием микробных биопленок: анти- и пробиопленочные агенты (обзор) / В.К. Плакунов, С.В. Мартыянов, Н.А. Тетенева и др. // Микробиология. 2017. № 86(4). С. 402-420.

3. Стрелкова Е.А. Роль внеклеточного полимерного матрикса в устойчивости бактериальных биопленок к экстремальным факторам среды. / Е.А. Стрелкова, Н.В. Позднякова, М.В. Журина и др. // Микробиология. 2013. № 82 (2). С. 131-138.
4. Тапальский Д.В., Тапальский Ф.Д. Антибактериальные свойства растительных экстрактов и их комбинаций с антибиотиками в отношении экстремально-антибиотикорезистентных микроорганизмов // Человек и его здоровье. 2018. Т. 1. С. 78-83. <https://doi.org/10.21626/vestnik/2018-1/12>
5. Хрянин А.А. Биоплёнки микроорганизмов: современные представления // Антибиотики и Химиотерапия. 2020. № 65(5-6). С. 70-77.
6. Шварц Т.А. Биопленки как микробное сообщество // Вестник Курганского государственного университета. 2015. Т. 1 (35). С. 41-44.
7. Algburi A. Control of biofilm formation: Antibiotics and beyond / A. Algburi, N. Comito, D. Kashtanov et al. // Appl. Environ. Microbiol. 2017. №83. p. e02508-16. <https://doi.org/10.1128/aem.02508-16>
8. Bauer A.W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method / A.W. Bauer, W.M. Kirby, J.C. Sherris et al. // Am J Clin Pathol. 1966. Vol. 45(4). P. 493-496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493
9. Donlan Rodney M. Biofilm Formation: A Clinically Relevant Microbiological Process // Clinical Infectious Diseases. 2001. Vol. 33. № 8. P. 1387-1392. <https://doi.org/10.1086/322972>
10. Koo H. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies / H. Koo, R.N. Allan, R.P. Howlin et al. // Nat Rev Microbiol. 2017. Vol. 15(12). P. 740-755. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.99>
11. Lohse M.B. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms / M.B. Lohse, M. Gulati, A.D. Johnson et al. // Nat Rev Microbiol. 2018. Vol. 16(1). P. 19-31. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.107>
12. Merritt J.H., Kadouri D.E., O'Toole G.A. Growing and analyzing static biofilms // Curr Protoc Microbiol. 2005. Vol. 1(1). <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc01b01s00>
13. Monds R.D., G.A. O'Toole The developmental model of microbial biofilms: ten years of a paradigm up for review // Trends Microbiol. 2009.Т. 17(2). p. 73-87.
14. Muhammad MH, Idris AL, Fan X, Guo Y, Yu Y, Jin X, Qiu J, Guan X and Huang T. Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches // Front. Microbiol. 2020. Vol. 11. P. 928. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00928>
15. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis // Mol Microbiol. 1998. № 28(3). P. 449-461. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>

16. Rabin N., Zheng Y., Opoku-Temeng C., Du Y., Bonsu E., O'Sintim H. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents // *Future medicinal chemistry*. 2015. Vol. 7. № 4. P.493-512. <https://doi.org/10.4155/fmc.15.6>
17. Rumbaugh K.P., Sauer K. Biofilm dispersion // *Nat Rev Microbiol*. 2020. № 18(10). P. 571-586. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0385-0>

References

1. Malafeeva E.V., Gulneva M.Yu. *Nauchnoe obozrenie. Meditsinskie nauki*, 2020, no. 4, pp. 65-69.
2. Plakunov V.K., Mart'yanov S.V., Teteneva N.A., et al. *Mikrobiologiya*, 2017, no. 86(4), pp. 402-420.
3. Strelkova E.A., Pozdnyakova N.V., Zhurina M.V., et al. *Mikrobiologiya*, 2013, no. 82 (2), pp. 131-138.
4. Tapal'skiy D.V., Tapal'skiy F.D. *Chelovek i ego zdorov'ye*, 2018, vol. 1, pp. 78-83. <https://doi.org/10.21626/vestnik/2018-1/12>
5. Khryanin A.A. *Antibiotiki i Khimioterapiya*, 2020, no. 65(5-6), pp. 70-77.
6. Shvarts T.A. *Vestnik Kurganskogo gosudarstvennogo universiteta*, 2015, vol. 1 (35), pp. 41-44.
7. Algburi A. Control of biofilm formation: Antibiotics and beyond / A. Algburi, N. Comito, D. Kashtanov et al. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2017, no. 83, e02508-16. <https://doi.org/10.1128/aem.02508-16>
8. Bauer A.W. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method / A.W. Bauer, W.M. Kirby, J.C. Sherris et al. *Am J Clin Pathol.*, 1966, vol. 45(4), pp. 493-496. https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493
9. Donlan Rodney M. Biofilm Formation: A Clinically Relevant Microbiological Process. *Clinical Infectious Diseases*, 2001, vol. 33, no. 8, pp. 1387-1392. <https://doi.org/10.1086/322972>
10. Koo H. Targeting microbial biofilms: current and prospective therapeutic strategies / H. Koo, R.N. Allan, R.P. Howlin et al. *Nat Rev Microbiol.*, 2017, vol. 15(12), pp. 740-755. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.99>
11. Lohse M.B. Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms / M.B. Lohse, M. Gulati, A.D. Johnson et al. *Nat Rev Microbiol.*, 2018, vol. 16(1), pp. 19-31. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.107>
12. Merritt J.H., Kadouri D.E., O'Toole G.A. Growing and analyzing static biofilms. *Curr Protoc Microbiol.*, 2005, vol. 1(1). <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mc01b01s00>
13. Monds R.D., G.A. O'Toole The developmental model of microbial biofilms: ten years of a paradigm up for review. *Trends Microbiol.*, 2009, vol. 17(2), pp. 73-87.

14. Muhammad MH, Idris AL, Fan X, Guo Y, Yu Y, Jin X, Qiu J, Guan X and Huang T. Beyond Risk: Bacterial Biofilms and Their Regulating Approaches. *Front. Microbiol.*, 2020, vol. 11, p. 928. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.00928>
15. O'Toole G.A., Kolter R. Initiation of biofilm formation in *Pseudomonas fluorescens* WCS365 proceeds via multiple, convergent signalling pathways: a genetic analysis. *Mol Microbiol.*, 1998, no. 28(3), pp. 449-461. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.1998.00797.x>
16. Rabin N., Zheng Y., Opoku-Temeng C., Du Y., Bonsu E., O'Sintim H. Biofilm formation mechanisms and targets for developing antibiofilm agents. *Future medicinal chemistry*, 2015, vol. 7, no. 4, pp. 493-512. <https://doi.org/10.4155/fmc.15.6>
17. Rumbaugh K.P., Sauer K. Biofilm dispersion. *Nat Rev Microbiol.*, 2020, no. 18(10), pp. 571-586. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0385-0>

ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ

Хабаева Зинаида Григорьевна, доцент кафедры анатомии, физиологии и ботаники, кандидат биологических наук, доцент
Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова
ул. Ватутина, 46, г. Владикавказ, 362025, Российская Федерация
zinahabaeva@mail.ru

Агаева Фатима Александровна, декан факультета химии, биологии и биотехнологии, кандидат химических наук, доцент
Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова
ул. Ватутина, 46, г. Владикавказ, 362025, Российская Федерация
agaevaf@yandex.ru

Марзоева Диана Артуровна, аспирант факультета химии, биологии и биотехнологии
Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова
ул. Ватутина, 46, г. Владикавказ, 362025, Российская Федерация
marzoeva.diana@yandex.ru

Бурнацева Алина Ахсаровна, ассистент кафедры общей и неорганической химии факультета химии, биологии и биотехнологии

Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова
ул. Ватутина, 46, г. Владикавказ, 362025, Российская Федерация
aa.burnatseva@nosu.ru

Бутхудзе Верико Джемаловна, магистрант факультета химии, биологии и биотехнологии
Северо-Осетинский государственный университет им. К.Л. Хетагурова
ул. Ватутина, 46, г. Владикавказ, 362025, Российская Федерация
vbutkhudze@mail.ru

DATA ABOUT THE AUTHORS

Zinaida G. Khabaeva, Associate Professor of the Department of Anatomy, Physiology and Botany, Candidate of Biological Sciences, Associate Professor
North Ossetian State University
46, Vatutina Str., Vladikavkaz, 362025, Russian Federation
zinahabaeva@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7214-7827>
SPIN-code: 6292-1722

Fatima A. Agaeva, Dean of the Faculty of Chemistry, Biology and Biotechnology, Associate Professor
North Ossetian State University
46, Vatutina Str., Vladikavkaz, 362025, Russian Federation
agaevaf@yandex.ru
SPIN-code: 1582-9157

Diana A. Marzoeva, Postgraduate Student of the Faculty of Chemistry, Biology and Biotechnology
North Ossetian State University
46, Vatutina Str., Vladikavkaz, 362025, Russian Federation
marzoeva.diana@yandex.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9785-5985>
SPIN-code: 3449-8995

Alina A. Burnatseva, Assistant of the Department of General and Inorganic Chemistry of the Faculty of Chemistry, Biology and Biotechnology

North Ossetian State University
46, Vatutina Str., Vladikavkaz, 362025, Russian Federation
aa.burnatseva@nosu.ru
SPIN-code: 3965-9545

Veriko D. Butkhudze, Master Student of the Faculty of Chemistry, Biology and Biotechnology

North Ossetian State University
46, Vatutina Str., Vladikavkaz, 362025, Russian Federation
vbutkhudze@mail.ru
ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6235-6788>

Поступила 06.03.2023

После рецензирования 19.04.2023

Принята 10.05.2023

Received 06.03.2023

Revised 19.04.2023

Accepted 10.05.2023