

## МИКРОБНЫЕ БИОПЛЕНКИ РАН: СОСТОЯНИЕ ВОПРОСА

А.Г. Афиногенова, Е.Н. Даровская

*ФГБУ «Российский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена» Минздрава России,  
директор – д.м.н. профессор Р.М. Тихилов  
Санкт-Петербург*

К настоящему времени накопилось значительное количество данных о том, что микроорганизмы в естественных условиях обитания существуют преимущественно в виде достаточно сложно организованных микробных сообществ, получивших название биопленки. Они влияют на течение хронических воспалительных заболеваний, и недавно полученные данные служат основанием предполагать, что биопленки также играют существенную роль в нарушении течения процессов заживления хронических ран. Биопленки обладают высоким уровнем толерантности к антителам, антибиотикам, антисептикам, дезинфектантам и фагоцитам. Используемые в настоящее время методы лечения ран с биопленками включают в себя обязательную частую очистку раны совместно с использованием раневых покрытий и антимикробных агентов для предотвращения реинфицирования раны и подавления реформирования биопленок.

**Ключевые слова:** биопленки, раневые инфекции, острова патогенности.

## MICROBIAL BIOFILMS OF WOUNDS: STATUS OF THE ISSUE

A.G. Afinogenova, E.N. Darovskaya

A significant amount of the data that microorganisms under natural conditions dwellings exist mainly in a kind of the difficult enough organized microbic communities which have received the name of Biofilms has by this time collected. They influence a current of chronic inflammatory diseases, and recently obtained data forms the basis to assume that Biofilms also play an essential role in disturbance of a current of processes of healing of chronic wounds. Biofilms possess high level of tolerance to antibodies, antibiotics, antiseptics, disinfectants and phagocytes. Methods of treatment of wounds with Biofilms include obligatory frequent clearing of a wound together with usage of wound coverings and antimicrobial agents for prevention of re-infection and suppression of reforming of Biofilms.

**Key words:** biofilms, wound infection, pathogenicity islands.

Микроорганизмы синтезируют и выделяют предохранительный матрикс, с помощью которого биопленки присоединяются к живой или неживой поверхности [29]. Биопленки – это подвижные, непрерывно изменяющиеся гетерогенные сообщества [21]. Они могут состоять из одного вида бактерий или грибов [4] или, что встречается более часто, могут быть полимикробными, например, содержать многочисленные разнообразные виды микроорганизмов [6]. В основном биопленки можно охарактеризовать как бактерии, внедренные в толстый слизистый слой, состоящий из сахаров и протеинов. Этот пленочный барьер защищает микроорганизмы от внешних воздействий.

В течение долгого времени считали, что биопленки образуются на поверхности изделий медицинского назначения, таких как мочевые катетеры, эндотрахеальные трубки, ортопедические и грудные имплантаты, контактные линзы, внутриматочные приспособления и хирургические нити [16]. Они являются основными источниками заболеваний,

которые характеризуются глубокими бактериальными инфекциями и хроническим воспалением, например, заболевания периодонта, фиброзы мочевого пузыря, хронические акне и остеомиелиты [1, 35].

Биопленки также обнаруживают в ранах, и предполагается, что они в некоторых случаях замедляют процесс заживления. Электронная микроскопия показала, что 60% биопленок, взятых из хронических ран, содержали биопленки, в то время как образцы из свежих – лишь 6% [24]. В связи с этим считают, что биопленки являются основным фактором, способствующим возрастанию числа хронических воспалительных заболеваний. При этом предполагают наличие биопленок в большинстве хронических ран, по крайней мере, на части раневого ложа.

**Этапы формирования биопленки. Этап 1. Обратимое прикрепление к поверхности.** Чаще всего микроорганизмы существуют в виде свободно плавающих масс или единичных (например, планктонных) колоний. Однако в нормальных условиях большинство микроорганизмов

стремятся прикрепиться к поверхности и, в конечном счете, образовать биопленку.

**Этап 2. Перманентное прилипание к поверхности.** По мере размножения бактерий они более прочно прилипают к поверхности, дифференцируются, обмениваются генами, что обеспечивает их выживаемость.

**Этап 3. Формирование слизистого защитного матрикса/биопленки.** Однажды устойчиво присоединившись, бактерии начинают образовывать экзополисахаридный окружающий матрикс, известный как внеклеточное полимерное вещество (extracellular polymeric substance). Это предохранительный матрикс или «слизь» (EPS-matrix). Мелкие колонии бактерий затем образуют первоначальную биопленку [16, 21].

Состав матричной слизи варьирует в соответствии с тем, какие именно микроорганизмы в нем присутствуют, но в основном в него входят полисахариды, белки, гликолипиды и бактериальная ДНК [19, 21, 30]. Разнообразные протеины и ферменты способствуют более прочному прилипанию биопленок к раневому ложу [19]. Полностью сформированные (зрелые) биопленки постоянно теряют планктонные бактерии, микроколонии и фрагменты, которые могут рассеиваться и прилипать к другим частям раневого ложа или к поверхностям других ран, образуя новые колонии биопленок [22, 37].

**Как быстро образуется биопленка?** Экспериментальные лабораторные исследования показали, что планктонные бактерии, например стафилококки, стрептококки, псевдомонады, кишечная палочка обычно: 1) присоединяются друг к другу в течение нескольких минут; 2) образуют прочно присоединенные микроколонии в течение 2–4 часов; 3) вырабатывают внеклеточные полисахариды и становятся значительно более толерантными к биоцидам, например, к антибиотикам, антисептикам и дезинфектантам, в течение 6–12 часов; 4) вовлекаются в полноценные колонии биопленки, которые очень устойчивы к биоцидам и теряют планктонные бактерии в течение 2–4 дней в зависимости от видов бактерий и условий роста; 5) быстро восстанавливаются после механического разрушения и вновь формируют зрелую биопленку в течение 24 часов [1, 11]. Эти факты позволяют предположить, что проведение нескольких последовательных очищений раны может дать небольшой промежуток времени, например, менее 24 часов, в течение которого антимикробное лечение наиболее эффективно в отношении как планктонных микроорганизмов, так и внутрибиопленочных клеток возбудителя в ране [9].

Только относительно недавно биопленки стали рассматривать как фактор, препятствующий

процессу лечения кожных ран [24, 35]. Как показали стандартные микробиологические лабораторные испытания, хронические кожные раны часто не сопровождаются выраженными симптомами инфекции и имеют низкую бактериальную обсемененность. Однако стандартные микробиологические тесты оптимизированы для выращивания планктонных бактерий и адекватно не определяют бактерии биопленок, поэтому требуются специальные технологии для инкубации [12, 25]. Термин «critical colonization» (критическая колонизация) возник в результате попытки подтверждения концепции о том, что бактерии играют решающую роль в неудачном лечении ран, не сопровождающихся очевидным проявлением инфекции [17]. В реальности концепция «критической колонизации» (или локализованной инфекции), вероятно, относится к наличию биопленки в хронической ране.

#### **Можно ли увидеть микробную биопленку?**

Биопленки – это микроскопические структуры. Однако в некоторых ситуациях, когда им дают возможность расти беспрепятственно в течение продолжительного периода времени, они становятся настолько плотными, что их можно увидеть невооруженным глазом. Например, зубной налет может накапливаться и становится четко видимым в течение дня. Некоторые бактерии из фенотипа продуцируют пигменты, что может способствовать визуальной детекции всей биопленки. Например, *P. aeruginosa*, находясь в фенотипе биопленки, в системе «quorum sensing» продуцирует молекулярный пиоцианин зеленого цвета [15]. Но даже в этом случае зеленое окрашивание раны не всегда свидетельствует о присутствии биопленки, сформированной *Pseudomonas sp.*

**Могут ли биопленки обнаруживаться в струпе?** Раневой струп описан как густой желтый, относительно темный слой раневого ложа, тогда как биопленки, обнаруженные в ранах, выглядят более гелеобразными и светлыми [23]. Тем не менее, может существовать связь между биопленками и струпом. Биопленки стимулируют воспаление, которое увеличивает проницаемость сосудов, образование раневого экссудата и формирование фибринового струпа. Таким образом, наличие струпа может указывать на присутствие в ране биопленки. Однако такая связь между струпом и биопленкой в хронических ранах должна быть еще изучена более тщательно.

В настоящее время наиболее надежным методом подтверждения наличия микробной биопленки является специальная микроскопия, например, конфокальное лазерное сканирующее микроскопическое исследование.

**Как зрелые биопленки защищают бактерии?** Биопленки существенно повышают толерантность микроорганизмов, внедренных в ее матрикс, к иммунной системе хозяина, антимикробным агентам и стрессам окружающей среды (например, ограничения в кислороде и питании). Эта толерантность может способствовать полной резистентности к факторам, которые могли бы легко уничтожить этих же самых микробов в случае их роста в незащищенном, планктонном состоянии [14, 19].

**Блокировка.** Один простой путь, в результате которого внеклеточный полисахаридный матрикс защищает микробов, – предотвращение глубокого проникновения в матрикс биопленки крупных молекул (например, антител) и клеток, вызывающих воспаление. Зрелая биопленка может также служить диффузным барьером даже для таких маленьких молекул, как антимикробные агенты [20].

**Взаимная защита.** Другое уникальное свойство полимикробных биопленок – совокупные защитные свойства, которые бактерии различных видов могут передавать между собой. Например, антибиотикоустойчивые бактерии способны выделять защитные ферменты или антибиотик-связывающие протеины, которые могут защищать соседние антибиотикочувствительные бактерии в биопленке [21]. Также они могут передавать другим бактериям гены, отвечающие за антибиотикорезистентность, даже между различными видами бактерий [33]. В исследованиях также показано, что специфические характеристики EPS биопленок, присущие одному виду бактерий, могут играть существенную роль в способности других видов присоединяться и внедряться в существующую биопленку [28].

**Бездействие (неподвижные бактерии).** Другая стратегия выживания, выработанная многими бактериями в биопленках, – это образование метаболически неподвижных (неактивных) субпопуляций. Для того, чтобы антибиотик подействовал на бактерии, последние должны быть метаболически активными, поэтому неактивные бактерии в биопленках не подвергаются действию антибиотиков, уничтожающих обычно активные бактерии [21].

В исследованиях показано, что наиболее низкие концентрации, требуемые для уничтожения или удаления бактериальной биопленки, для большинства антибиотиков фактически превышают максимальные прописываемые врачами дозы [13, 27].

Таким образом, стандартные пероральные дозировки для тех антибиотиков, которые эффективно уничтожают обычно чувствительные планктоно-выращиваемые в клинической

лаборатории бактерии, могут иметь слабое антимикробное действие или могут быть вовсе неэффективными в отношении того же типа бактерий в биопленках, выделенных из ран пациентов.

**Как биопленки препятствуют процессу лечения ран?** Во время освобождения поверхности раны от биопленки последняя стимулирует хронический воспалительный ответ. Такая реакция приводит к появлению большого количества нейтрофилов и макрофагов, окружающих биопленку. Эти воспалительные клетки образуют большое количество реактивных окислителей и протеаз (металлопротеиназы матрикса и эластазы). Протеазы способствуют нарушению присоединения биопленки к тканям, удаляя ее из раны [18]. Однако эти реактивные окислители и протеазы также разрушают здоровые и заживающие ткани, протеины и иммунные клетки, что ухудшает качество лечения.

Хронический воспалительный ответ не всегда приводит к успешному удалению биопленки, и была выдвинута гипотеза о том, что подобный ответ «выгоден» биопленке. Индуцируя неэффективный воспалительный ответ, биопленка предохраняет образующие ее микроорганизмы и усиливает выработку экссудата, который, в свою очередь, является источником питания и средством сохранения биопленки.

**Существуют ли условия, способствующие образованию биопленки в ране?** Неизвестно, существуют ли условия, способствующие образованию биопленки в ране. Тем не менее, основные условия, ослабляющие иммунную систему или снижающие действия антибиотиков, могут способствовать развитию биопленки в ранах (например, ишемия тканей или некрозы, плохое питание).

**Каковы принципы управления биопленкой?** Даже если существует большая вероятность того, что в ране имеется биопленка, отсутствует одношаговое средство лечения. Оптимальным может быть использование комбинированной стратегии, основанной на элементах подготовки раневого ложа и служащей для снятия массы биопленки, предотвращения реконструкции биопленки [34]. Этот подход иногда называют «biofilm-based wound care» (лечение ран с биопленкой).

**Как можно снизить «тяжесть» массы биопленки?** Предполагают, что механическое удаление (иссечение или энергичное механическое очищение) – это наилучшие методы уменьшения биомассы. Иссечение включает удаление некротизированной и контаминированной ткани и гноя из раны, что дает возможность ее заживления. Существуют различные методы

очистки раны, начиная с острого иссечения и заканчивая методиками, обычно применяемыми для очищения раны, например орошение [31, 32]. Исследования в области биопленок включают широко используемые острое иссечение и ультразвуковое иссечение, приводящие к открытию всех каналов и удалению нежизнеспособной ткани, струпа или потемневшей или мягкой кости. Однако из-за сложности визуального обнаружения биопленок действенное иссечение для очистки раны и лучший для этого метод до сих пор не определены.

#### **Частота проведения иссечения/очистки ран.**

Ни один из методов очистки ран не обеспечивает удаления биопленки полностью, и, таким образом, любые остающиеся бактерии или биопленки потенциально могут вырасти вновь и сформировать полноценную биопленку в течение нескольких дней. В связи с этим предлагают регулярное проведение иссечения в ране, в которой может быть микробная биопленка. До сих пор оптимальная частота иссечения ран еще не определена. Например, у пациентов с критической ишемией конечности она осуществляется еженедельно [36].

Предполагают, что некоторые препараты играют дополнительную роль в процессе очистки ран из-за способности удалять бактерии и омертвевшие ткани из раны и, таким образом, нарушать биопленку. Многообещающие технологии, например, связаны с поверхностно-активными свойствами некоторых полигексаметиленбигуанидов (полигексанидов, ПГМБ) в рецептурах для очистки ран (например, раствор и гель для очистки ран «ПРОНТОСАН®», Швейцария). Поверхностно-активный компонент в составе очищающей композиции снижает поверхностное натяжение, что приводит к удалению бактерий и омертвевших тканей при орошении [10, 26].

**Как можно предотвратить восстановление биопленки?** Биопленка может восстанавливаться в ране с помощью: 1) роста фрагментов, оставшихся после очистки/иссечения; 2) размножения планктонных бактерий, высвободившихся из оставшейся биопленки; 3) роста биопленки из вновь внесенных микроорганизмов.

Принципы, используемые для предотвращения восстановления биопленки, включают предупреждение дальнейшего инфицирования раны (например, при использовании перевязочных материалов) и применение антимикробных агентов для уничтожения планктонных микроорганизмов. Полимикробная природа многих биопленок указывает на то, что наиболее предпочтительно использование местных антимикробных агентов широкого спектра действия,

чаще вызывающих гибель, а не ингибирование микроорганизмов. Детальный механизм влияния антимикробных веществ на преобразование биопленки до сих пор не известен. Тем не менее, наиболее часто используемые для обработки ран антимикробные средства широкого спектра действия – это серебро, йод, полигексаметиленбигуаниды.

Непременное правило для применения местных антимикробных агентов – замена их на другие в случае неэффективности лечения. Однако невозможно определить, какие именно антимикробные вещества следует применять в первую очередь; выбор будет зависеть от способа их применения. Например, будет ли препарат оставлен на месте применения в течение нескольких дней? Если да, то желательно применение такого состава, из которого действующее вещество будет высвобождаться в течение времени использования. Также должны приниматься во внимание чувствительность и аллергические реакции пациентов.

#### **Как узнать, была ли удалена биопленка?**

Отсутствие выраженных симптомов и отработанных лабораторных методик для определения микробных сообществ не дает возможности конкретизировать момент освобождения раны от биопленки. Наиболее показательным является прогрессирующее заживление раны, характеризующееся снижением выделения экссудата и отторжением струпа. До тех пор, пока не будет разработано точное руководство, клиницистам будет предложено самим принимать решение о способе лечения ран с биопленками в каждом конкретном случае. Например, когда лечение идет успешно, может быть, потребуются изменить метод или частоту обработки ран или решить вопрос о необходимости применения местных антимикробных веществ. Вопросы о проведении дополнительных необходимых мероприятий для стимулирования процесса лечения ран должны решаться с учетом состояния здоровья пациента и быть направлены на поддержку его иммунной системы.

Таким образом, биопленки влияют на течение хронических воспалительных заболеваний, и недавно полученные данные служат основанием предполагать, что они также играют существенную роль в нарушении течения процессов заживления хронических ран. Биопленки обладают высоким уровнем толерантности к антибиотикам, антисептикам, дезинфектантам и фагоцитам. Используемые в настоящее время методы лечения ран с биопленками включают в себя обязательную частую очистку раны совместно с использованием раневых покрытий и антимикробных агентов для предотвращения

реинфицирования раны и подавления реформирования биопленок.

При рассмотрении вопроса об этиопатогенезе раневой инфекции следует учитывать, что всякий местный инфекционный очаг с микробиологических позиций следует рассматривать как патологический биоценоз. Это означает, что любой микробиот, находящийся в данном очаге, способен активно участвовать в инфекционном процессе лишь постольку, поскольку находит для себя оптимальными условия существования и проявления всех вегетативных функций, включая максимальную реализацию своей патогенности для организма хозяина. Признание данного положения, в свою очередь, служит основанием для последующих выводов. Если изначальная патогенность возбудителя достаточно высока, а природные механизмы противинфекционной защиты хозяина недостаточны или ослаблены каким-либо фоновым патологическим процессом, то формирование патологического биотопа может стать следствием постепенного развития самого инфекционного процесса [8]. Однако процесс может развиваться и по другому сценарию, когда локальный патологический биотоп образуется предварительно, до развития инфекции под воздействием местных повреждающих факторов. Классическим примером такого развития событий служит раневая инфекция. При этом обширность и тяжесть местного повреждения тканей способны определить условия для участия в формировании патологического биоценоза не только облигатно-, но и условно-патогенной микрофлоры. При определенных параметрах тяжести травмы возникает ситуация, способствующая ранней генерализации инфекции, поскольку патологическим биотопом становятся другие тканевые структуры организма.

В лабораториях этиологическую значимость выделяемых условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) принято определять преимущественно с учетом источника их выделения и концентрации в материале. Однако количественный критерий не всегда определяет способность изолята вызывать заболевание, которое в определенной степени связано с выраженностью – набором его факторов патогенности. Основные механизмы реализации вирулентности УПМ в зависимости от их роли в течении раневого процесса можно описать следующим образом: 1) при наличии источника инфекции происходит колонизация биогенных и абиогенных поверхностей и объектов с развитием гнойно-септического и других патологических состояний; 2) если условно-патогенные бактерии стимулируют образование медиато-

ров воспаления, то происходят повреждение тканей, гипоксия, нарушение микроциркуляции и свертываемости крови; 3) сенсибилизирующая активность УПМ вызывает аллергические проявления у пациента; 4) при наличии у УПМ банка генов, часто ассоциированных с «островами патогенности» и маркерами лекарственной устойчивости, происходит формирование патогенных клонов путем генетического обмена: конъюгации, трансдукции или трансформации [7].

При обосновании этиологической значимости УПМ используют следующие критерии: 1) при отсутствии патогенных бактерий этиологическое значение имеют любые бактериальные изоляты из крови, ликвора, плеврального экссудата, закрытых полостей; 2) этиологически значимы выделенные из ран УПМ в концентрации  $10^5$  КОЕ/мл; 3) важное значение имеет наличие факторов патогенности у изолятов; 4) определенную роль играет нарастание титра антител в динамике при серологическом исследовании парных сывороток крови в реакции агглютинации с изолятом; 5) имеет значение выделение УПМ в первые дни заболевания до начала этиотропной терапии и исчезновение их в период реконвалесценции.

Фенотипическими маркерами вирулентности УПМ являются факторы адгезии, колонизации и размножения в тканях (адгезины и факторы колонизации, факторы биопленкообразования, инвазины, факторы поглощения ионов железа), а также секретируемые факторы патогенности (гемолизины, цитотоксины, энтеротоксины, генотоксические ферменты, ДНК-азы, РНК-азы, гиалуронидаза, сериновые протеазы, включая IgA протеиназу, лецитиназа, щелочная фосфатаза, казеиназа [3]).

В свете выдвинутых положений следует заметить, что именно в раневой инфекции с наибольшей полнотой раскрывается микробиологический феномен тропности. Тропностью, или тропизмом (от греч. *trope* – направленность), принято называть феномен, наблюдаемый у многих живых организмов и означающий приверженность какому-либо стимулу.

На основе эмпирического обобщения вполне объяснимо и усиление патогенности отдельных штаммов условно-патогенной микрофлоры, а также проявление патогенных свойств у сапрофитов, если к тому располагает изменение условий их существования [38]. Для расширения проблемы раневой инфекции раскрытие механизмов тропности и закономерностей ее изменений имеет особую значимость. Механическая травма тканей и органов как фактор, формирующий почву для развития инфекции, при нали-

чии микробного загрязнения не только служит мощным индуктором инфекционного процесса, но и создает предпосылки для проявления повышенной патогенности микробиоты и динамической смены доминирующих ее представителей по мере развития процесса.

Эти особенности раневой инфекции проявляются наиболее отчетливо в случае неадекватности комплексных лечебно-профилактических мероприятий. При высоких показателях градации тяжести травмы может наступить клиническая ситуация, определяющая подготовленность организма к раннему развитию генерализованных форм инфекции с исходом в раневой сепсис. В последнем случае, вследствие глубоких общесоматических расстройств в раннем посттравматическом периоде, изменения, характерные для патологического биотопа, стимулирующего проявления патогенных свойств микробиоты, наступают не только в очагах повреждения, но и в различных тканевых структурах организма хозяина, независимо от их расположения относительно области повреждения и от непосредственной функциональной сопряженности [5].

В последнее десятилетие регистрируют глобальное распространение «островов» патогенности среди внутрибольничных штаммов энтеробактерий, энтерококков, стафилококков и псевдомонад. Установлено, что у оппортунистических штаммов, выделенных при вспышках госпитальных инфекций, «острова» патогенности обнаруживали практически во всех случаях. В основе «патогенизации» штаммов лежит структурная модификация бактериальной ДНК, связанная с приобретением геномных «островов» патогенности, обнаружение которых является маркером этиопатогенетической значимости клинического изолята [2, 3].

Несмотря на то, что проблема образования биопленок симбиотическими и условно-патогенными микроорганизмами в условиях *in vivo* до конца не выяснена, неоспоримо доказана связь этого феномена с проявлением социального поведения бактерий, получившего название «чувство кворума» (Quorum Sensing /QS/). Процесс глобальной регуляции в таких социальных системах осуществляется за счет аутоиндукторов – специфических сигнальных молекул, которые легко диффундируют, а затем, достигая критической концентрации, активируют или репрессируют соответствующие QS-системы. По-видимому, при достижении в микробном сообществе критической численности оппортунистических микроорганизмов QS-система стимулирует усиление адгезивных свойств потенциального возбудителя и ини-

цирует синтез факторов патогенности, что в дальнейшем и определяет развитие инфекционного процесса.

Формирование условно-патогенными бактериями биопленки будет возможно в случае активации регуляторной QS-системы, определяющей межклеточные коммуникативные связи и максимальное проявление вирулентности бактериями в микробных ассоциациях и иммунодефицитным состоянием самого макроорганизма [3, 9].

## Литература

1. Бехало, В.А. Иммунобиологические особенности бактериальных клеток, входящих в состав «медицинских биопленок» / В.А. Бехало, В.М. Бондаренко, Е.В. Сысолятина, Е.В. Нагурская // Микробиология. – 2010. – № 4. – С. 97 – 107.
2. Бондаренко, В.М. Механизмы формирования патогенности оппортунистическими микроорганизмами / В.М. Бондаренко // Материалы II Ежегодного Всероссийского конгресса по инфекционным болезням. – М., 2010. – С. 42 – 43.
3. Бондаренко, В.М. Роль условно-патогенных бактерий при хронических воспалительных процессах различной локализации / В.М. Бондаренко. – Тверь : Триада, 2011. – 88 с.
4. Елинов, Н.П. Структурированные и неструктурированные формы существования микромицетов в искусственных и естественных условиях / Н.П. Елинов // Проблемы медицинской микологии. – 2009. – Т. 11, № 3. – С. 3 – 9.
5. Ерюхин, И.А. Хирургические инфекции: руководство / И.А. Ерюхин, В.А. Хрупкин, В.М. Бадиков. – СПб. : Питер, 2003. – Гл. 4. Раневая инфекция. – С. 213 – 262.
6. Ильина, Т.С. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития / Т.С. Ильина, Ю.М. Романова, А.Л. Гинцбург // Генетика. – 2004. – № 40. – С. 1 – 12.
7. Кетлинский, С.А. Цитокины / С.А. Кетлинский, А.С. Симбирцев. – СПб. : Фолиант, 2008. – 552 с.
8. Пинчук, Л.М. Молекулярная мимикрия как фактор патогенности микроорганизмов / Л.М. Пинчук // Успехи современной биологии. – 1992. – Т. 112, № 2. – С. 225 – 237.
9. Рыбальченко, О.В. Атлас ультраструктуры микробиоты кишечника человека / О.В. Рыбальченко, В.М. Бондаренко, В.П. Добрица. – СПб. : ИИЦ ВМА, 2008. – 112 с.
10. Andriessen, A.E. Assessment of a wound cleansing solution in the treatment of problem wounds / A.E. Andriessen, T. Eberlein // Wounds. – 2008. – Vol. 20, N 6. – P. 171 – 175.
11. Bester, E. Metabolic differentiation in biofilms as indicated by carbon dioxide production rates / E. Bester [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 2010. – Vol. 76, N 4. – P. 1189 – 1197.
12. Bjarsholt, T. Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis / T. Bjarsholt [et al.] // Wound Repair Regen. – 2008. – Vol. 16, N 1. – P. 2 – 10.

13. Conley, J. Biofilm formation by group A streptococci: is there a relationship with treatment failure? / J. Conley [et al.] // *J. Clin. Microbiol.* — 2003. — Vol. 41, N 9. — P. 4043–4048.
14. Costerton, J.W. Microbial biofilms / J.W. Costerton [et al.] // *Ann. Rev. Microbiol.* — 1995. — Vol. 49. — P. 711–745.
15. Dietrich, L.E. The phenazine pyocyanin is a terminal signalling factor in the quorum sensing network of *Pseudomonas aeruginosa* / L.E. Dietrich [et al.] // *Mol. Microbiol.* — 2006. — Vol. 61, N 5. — P. 1308–1321.
16. Donlan, R.M. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms / R.M. Donlan, J.W. Costerton // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2002. — Vol. 15, N 2. — P. 167–193.
17. Edwards, R. Bacteria and wound healing / R. Edwards, K.G. Harding // *Curr. Opin. Infect. Dis.* — 2004. — Vol. 17, N 2. — P. 91–96.
18. European Wound Management Association (EWMA). Position Document: Wound Bed Preparation in Practice. — London: MEP Ltd, 2004.
19. Flemming, H.C. The EPS matrix: the "house of biofilm cells" / H.C. Flemming, T.R. Neu, D.J. Wozniak // *J. Bacteriol.* — 2007. — Vol. 189, N 22. — P. 7945–7947.
20. Guiot, E. Heterogeneity of diffusion inside microbial biofilms determined by fluorescence correlation spectroscopy under two-photon excitation / E. Guiot [et al.] // *Photochem. Photobiol.* — 2002. — Vol. 75, N 6. — P. 570–579.
21. Hall-Stoodley, L. Evolving concepts in biofilm infections / L. Hall-Stoodley, P. Stoodley // *Cell Microbiol.* — 2009. — Vol. 11, N 7. — P. 1034–1043.
22. Hibbing, M.E. Bacterial competition: surviving and thriving in the microbial jungle / M.E. Hibbing, C. Fuqua, M.R. Parsek, S.B. Peterson // *Nat. Rev. Microbiol.* — 2010. — Vol. 8, N 1. — P. 15–25.
23. Hurlow, J. Clinical experience with wound biofilm and management: a case series / J. Hurlow, P.G. Bowler // *Ostomy Wound Manage.* — 2009. — Vol. 55, N 4. — P. 38–49.
24. James, G.A. Biofilms in chronic wounds / G.A. James [et al.] // *Wound Repair Regen.* — 2008. — Vol. 16, N 1. — P. 37–44.
25. Kaerberlein, T. Isolating "uncultivable" microorganisms in pure culture in a simulated natural environment / T. Kaerberlein, K. Lewis, S.S. Epstein // *Science.* — 2002. — Vol. 296, N 5570. — P. 1127–1129.
26. Kaehn, K. In-vitro test for comparing the efficacy of wound rinsing solutions / K. Kaehn, T. Eberlein // *Br. J. Nurs.* — 2009. — Vol. 18, N 11. — P. 4–10.
27. Koseoglu, H. Ultrastructural stages of biofilm development of *Escherichia coli* on urethral catheters and effects of antibiotics on biofilm formation / H. Koseoglu [et al.] // *Urology.* — 2006. — Vol. 68, N 5. — P. 942–946.
28. Liu, Y. Role of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm in the initial adhesion, growth and detachment of *Escherichia coli* in porous media / Y. Liu, J. Li // *Environ. Sci. Technol.* — 2008. — Vol. 42, N 2. — P. 443–449.
29. Stoodley, P. Biofilms as complex differentiated communities / P. Stoodley, K. Sauer, D.G. Davies, J.W. Costerton // *Annual Rev. Microbiol.* — 2002. — Vol. 56. — P. 187–209.
30. Sutherland, I. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework / I. Sutherland // *Microbiology.* — 2001. — Vol. 147, Pt. 1. — P. 3–9.
31. Vowden, K.R. Wound debridement, Part 1: non-sharp techniques / K.R. Vowden, P. Vowden // *J. Wound Care.* — 1999. — Vol. 8, N 5. — P. 237–240.
32. Vowden, K.R. Wound debridement, Part 2: sharp techniques / K.R. Vowden, P. Vowden // *J. Wound Care.* — 1999. — Vol. 8, N 6. — P. 291–294.
33. Weigel, L.M. High-level vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates associated with a polymicrobial biofilm / L.M. Weigel [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* — 2007. — Vol. 51, N 1. — P. 231–238.
34. Wolcott, R.D. Regular debridement is the main tool for maintaining a healthy wound bed in most chronic wounds / R.D. Wolcott, J.P. Kennedy, S.E. Dowd // *J. Wound Care.* — 2009. — Vol. 18, N 2. — P. 54–56.
35. Wolcott, R.D. Chronic wounds and the medical biofilm paradigm / R.D. Wolcott [et al.] // *J. Wound Care.* — 2010. — Vol. 19, N 2. — P. 45–50, 52–53.
36. Wolcott, R.D. A study of biofilm-based wound management in subjects with critical limb ischaemia / R.D. Wolcott, D.D. Rhoads // *J. Wound Care.* — 2008. — Vol. 17, N 4. — P. 145–155.
37. Xavier, J.B. Cooperation and conflict in microbial biofilms / J.B. Xavier, K.R. Foster // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2007. — Vol. 104, N 3. — P. 876–881.
38. Ziebuhr, W. Nosocomial infections by *Staphylococcus epidermidis*: how a commensal bacterium turns into a pathogen / W. Ziebuhr [et al.] // *Int. J. Antimicrob. Agents.* — 2006. — Vol. 28, Suppl. 1. — P. 14–20.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Афиногенова Анна Геннадьевна – к.м.н. ведущий научный сотрудник  
E-mail: spbtestcenter@mail.ru;

Даровская Елена Николаевна – к.м.н. старший научный сотрудник.