

**Федеральное бюджетное учреждение науки
«Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и
микробиологии им. Г. Н. Габричевского»
Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и
благополучия человека**

На правах рукописи

Каминский Валерий Васильевич

Микробиологические и биотехнологические аспекты создания ESKAPE-
элиминирующей бионаноструктурированной композиции

1.5.6 – биотехнология

1.5.11 – микробиология

Диссертация
на соискание учёной степени
кандидата биологических наук

Научные руководители:

доктор биологических наук,

профессор РАН, член-корреспондент РАН

доктор физико-математических наук

А. В. Алёшкин

А. М. Емельяненко

Москва – 2024

Оглавление

ВВЕДЕНИЕ.....	6
Актуальность темы исследования.....	6
Степень разработанности темы исследования.....	7
Цель исследования.....	9
Задачи исследования.....	9
Научная новизна исследования.....	9
Теоретическая и практическая значимость работы.....	10
Методология и методы исследования.....	11
Объекты исследования.....	12
Супергидрофильные, супергидрофобные нанотекстурированные и контрольные образцы.....	12
Штаммы бактерий.....	14
Штаммы бактериофагов.....	14
Материалы исследования.....	14
Питательные среды.....	14
Дисперсионные среды и реактивы.....	15
Методы исследования.....	15
Получение суточной культуры бактериальных штаммов.....	15
Получение бактериальной суспензии нужного титра.....	15
Определение литической активности бактериофагов.....	16
Сканирующая электронная микроскопия.....	16
Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия.....	17
Получение супергидрофильного и супергидрофобного покрытия исследуемых образцов.....	17
Метод исследования динамики смачиваемости поверхности исследуемых образцов.....	20
Исследования электрокинетических характеристик бактерий и бактериофагов	20
Определение концентрации ионов меди и магния в дисперсионной среде.....	21

Определение рН дисперсионной среды.....	21
Статистические методы.....	21
Личное участие автора в получении результатов.....	22
Основные положения диссертации, выносимые на защиту:.....	23
Степень достоверности и апробация результатов исследования.....	23
ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ.....	25
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	25
1.1. ИСМП - глобальная проблема современной медицины	25
1.1.1. Распространённость ИСМП в РФ, Европе, США, Китае	25
1.1.2. Экономический ущерб и смертность от ИСМП	28
1.1.3. ESKAPE-патогены – основные возбудители ИСМП	29
1.1.4. Антибиотикорезистентность и устойчивость к дезинфектантам ESKAPE-патогенов.....	34
1.2. Антибактериальные свойства металлов. Механизм взаимодействия бактериальной клетки с поверхностью металла. Опыт применения в медицине	40
1.3. Бактериофаги.....	46
РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	56
ГЛАВА 2. РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСА БАКТЕРИОФАГОВ С СУПЕРГИДРОФИЛЬНЫМИ И СУПЕРГИДРОФОБНЫМИ ПОВЕРХНОСТЯМИ МЕТАЛЛОВ.....	58
2.1. Отработка технологии нанесения культур бактерий и бактериофагов на испытываемые пластины	58
ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ	63
3.1. Морфология поверхностей образцов	63
3.1.1. Морфология поверхности образцов из меди	63
3.1.2. Морфология поверхности образцов из магния.....	64
3.2. Распределение бактерий по поверхности исследуемых образцов.....	66

3.2.1. Распределение бактерий по поверхности исследуемых образцов из меди	66
3.3. Механизм первичной адгезии.....	69
3.4. Анализ смачиваемости поверхностей исследуемых образцов.....	70
3.4.1. Изменение смачиваемости образцов из алюминия	71
3.4.2. Изменение смачиваемости покрытий медных образцов	73
3.4.3. Изменение смачиваемости образцов из магния.....	74
3.5. Накопление меди в суспензии и клетками бактерий	76
3.6. Изменение рН дисперсионной среды при контакте с супергидрофобным образцом из магния суспензий <i>P. aeruginosa</i> B-3086 и <i>K. pneumoniae</i> B-811.....	80
3.7. Изменение концентрации магния в суспензиях <i>P. aeruginosa</i> B-3086 и <i>K. pneumoniae</i> B-811	82
ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СУПЕРГИДРОФИЛЬНЫХ И СУПЕРГИДРОФОБНЫХ НАНОТЕКСТУРИРОВАННЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ МЕТАЛЛОВ	
4.1. Антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных пластин из алюминиевого сплава AMG в отношении <i>A. baumannii</i> B-05, <i>K. pneumoniae</i> B-811, <i>P. aeruginosa</i> B-3086, <i>S. aureus</i> 2004	84
4.2. Антибактериальная активность супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных пластин из медного сплава M1M в отношении <i>E. coli</i> и <i>K. pneumoniae</i>	87
4.3. Антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных пластин из магниевоего сплава MA8 в отношении <i>E. coli</i> K12 C600, <i>K. pneumoniae</i> B-811, <i>P. aeruginosa</i> B-3086	91
4.3.1. Антибактериальная активность в эксперименте с сохранением капли суспензии <i>E. coli</i> K12 C600	91
4.3.2. Антибактериальная активность текстурированных и контрольных образцов в эксперименте с погружением в суспензию <i>E. coli</i> K12 C600, <i>K. pneumoniae</i> B-811, <i>P. aeruginosa</i> B-3086	92
4.4. Антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных пластин из нержавеющей стали марки 12X18H10T в отношении <i>A. baumannii</i> B-05	96

ГЛАВА 5. АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ОРГАНО- НЕОРГАНИЧЕСКИХ ПОКРЫТИЙ МЕТАЛЛОВ С СОРБИРОВАННЫМИ БАКТЕРИОФАГАМИ.....	99
5.1. Антибактериальная активность исследуемых образцов из алюминия с сорбированными бактериофагами	99
5.2. Антибактериальная активность текстурированных образцов из меди с сорбированными бактериофагами	102
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	107
ВЫВОДЫ.....	119
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	121
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ	122
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	123
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	124

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

В последние годы инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) справедливо признаются одной из самых серьезных проблем современной медицины, приводящей к увеличению продолжительности лечения, инвалидизации и экономическому бремени системы здравоохранения [29, 137].

Основными возбудителями инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, являются представители группы ESKAPE-патогенов (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter species*) [238]. В результате передачи генов устойчивости к антимикробным препаратам, реализации множественных механизмов лекарственной устойчивости, терапия инфекций, вызванных ESKAPE-патогенами, имеющимися сейчас антимикробными препаратами усложняется [22, 77, 99, 124, 133, 155, 238], что отражено ведущими организациями здравоохранения в отчётах последних десятилетий [283, 284]. Всемирная организация здравоохранения внесла ESKAPE-патогены в список бактерий, в борьбе с которыми остро необходимы новые антимикробные препараты [257].

На разработку и внедрение новых антимикробных препаратов уходят многие годы [188]. В связи с этим учёными всего мира разрабатываются альтернативные методы борьбы с бактериальными инфекциями [202, 242, 289]. Эти подходы на фоне преимуществ имеют ряд ограничений и недостатков, требуют дополнительных исследований для подтверждения безопасности и эффективности. Перспективным представляется профилактика возникновения инфекционных осложнений комбинированными средствами борьбы, примером которых могут быть поверхности, предотвращающие контаминацию бактериями, препятствующие формированию биоплёнок, уничтожающие бактерии с помощью нанотекстур, наночастиц и антимикробных полимеров [108, 149, 190, 261]. Использование органо-неорганических нанотекстурированных поверхностей

металлов с экстремальной смачиваемостью с сорбированными бактериофагами обладает рядом преимуществ в профилактике распространения антибиотикорезистентных штаммов бактерий.

Степень разработанности темы исследования

Понимание важности проблемы внутрибольничных инфекций, недостаточная эффективность современных средств дезинфекции и рост антибиотикорезистентности вызвали острую необходимость в поиске альтернативных способов борьбы с бактериальными инфекциями. Проблема инфекционных осложнений усугубляется тем, что большинство возбудителей в больничной среде находятся в составе биоплёнки, что значительно осложняет их эрадикацию [13, 233, 264]. Неполное проникновение антимикробных препаратов через биоплёнку является причиной их пониженной эффективности, что обуславливает сохранение жизнеспособности бактерий [264]. Такая неспособность антимикробных препаратов проникать внутрь биоплёнки и проявлять свое действие в ней может дать время для адаптивного фенотипического ответа, который потенциально может повысить толерантность бактерий, что является одной из основных причин неэффективности использования антимикробных препаратов против биопленок [109, 156]. Распространение бактериальных агентов происходит, в том числе, через поверхности медицинского оборудования и инструменты. Одним из биотехнологических решений проблемы распространения бактериальных инфекций в больничной среде являются поверхности, обладающие бактерицидными свойствами и препятствующие адгезии микроорганизмов. Использование поверхностей, покрытых антимикробными препаратами, вызывает серьёзную озабоченность, поскольку широкое их использование сопряжено с появлением штаммов с множественной лекарственной устойчивостью. Поверхности многих инвазивных устройств, в принципе, не доступны для обработки антисептическими препаратами, и удаление их (устройств) зачастую является единственным способом решения проблемы инфекционного

осложнения. Преобладание ручного способа обработки приборов для проведения инвазивных манипуляций, частое отступление от действующих санитарных правил по обеспечению инфекционной безопасности и контаминации в автоматических моечно-дезинфицирующих машинах увеличивает инфекционные риски. Вместо химического уничтожения бактерий в последнее время все активнее рассматриваются альтернативные физические методы контактного уничтожения бактерий и методы препятствия первичной адгезии. Эти разработки частично вдохновлены природой, так как известно, что у некоторых насекомых есть бактерицидные поверхности, уничтожающие микроорганизмы, контактирующие с ними [253]. Бактерицидное действие этих поверхностей обусловлено наличием наноструктур, которые проникают в клеточную стенку микроорганизма при контакте, что приводит к её разрыву, а затем гибели бактериальной клетки. Этот метод стал привлекательным подходом для потенциальной борьбы с бактериями с множественной лекарственной устойчивостью [151]. Уничтожение бактерий физически с помощью наноструктур, а не химических средств, стало актуальным. Разработки в этой области сосредоточены на различных типах антимикробных покрытий для предотвращения возникновения инфекций, использовании наночастиц в качестве антимикробных агентов, антимикробных поверхностей на основе полимеров и других материалов, встречающихся в природе противомикробных поверхностей [108, 190, 195, 245, 261]. Дисперсии наночастиц (наножидкости) и наноструктурированные поверхности всё чаще встречаются в современных составах и технологических приложениях для уменьшения адгезии микроорганизмов, для улучшения характеристик и получения дополнительных функциональных возможностей [56, 117, 213, 261]. Знания о взаимодействиях наноструктур и бактерий тесно связаны с темой нанотоксичности и фундаментальным пониманием взаимодействий между наночастицами и организованной мягкой материей [111, 212, 219]. Познания о стратегиях проектирования для изготовления эффективных и экономически жизнеспособных

бактерицидных наноструктурированных поверхностей остаются ограниченными. Зачастую антибактериальная активность поверхностей не сочетается с препятствием первичной адгезии, которая способствует формированию биоплёнки. Одним из способов усиления специфического бактерицидного эффекта могут являться бактериофаги, которые давно и успешно используются в борьбе с инфекциями [5, 105, 108].

Цель исследования

Разработка ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции, снижающей риск распространения ESKAPE-патогенов.

Задачи исследования

1. Разработать технологию нанесения культур бактерий и бактериофагов на металлические пластины.
2. Исследовать биологические, физико-химические особенности взаимодействия клеток бактерий, бактериофагов и текстурированных поверхностей.
3. Оценить антибактериальные свойства супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностей металлов.
4. Провести анализ антибактериальной активности органо-неорганических гибридных покрытий металлов с сорбированными бактериофагами.
5. Оценить влияние коррозионной стойкости поверхностей металлов с экстремальной смачиваемостью на их антибактериальную активность.

Научная новизна исследования

Впервые в РФ разработаны микробиологические и биотехнологические принципы создания ESKAPE-элиминирующей бионаноструктурированной композиции, представляющей собой комплекс бактериофагов с супергидрофильными и супергидрофобными поверхностями из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали.

На основе физико-химических методов исследовано взаимодействие клеток бактерий, бактериофагов и текстурированных поверхностей, раскрывающее

механизм влияния поверхностей с экстремальной смачиваемостью на патогенные микроорганизмы.

Проведена оценка эффективности антибактериальной активности разработанной бионаноструктурированной композиции в отношении ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи - *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*.

Теоретическая и практическая значимость работы

На основе исследования механизмов взаимодействия бактериофагов, бактерий и нанотекстурированных поверхностей разработаны теоретические основы моделирования бактериального загрязнения и предотвращение микробной контаминации неорганических поверхностей.

Получены новые знания о природе взаимодействия бактерий и бактериофагов с супергидрофильными и супергидрофобными поверхностями металлов на основе физико-химических свойств, в том числе значений дзета-потенциалов перечисленных выше объектов исследования.

Разработана пилотная технология нанесения бактериофагов на супергидрофобные и супергидрофильные покрытия металлов, ориентированная на получение бактерицидных поверхностей, применение которых в лечебно-профилактических организациях будет способствовать снижению риска распространения ESKAPE-патогенов.

Разработаны биотехнологические подходы к созданию композиций бактериофагов, сорбированных на супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностях из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали, которые могут применяться также и для поверхностей из других материалов.

Созданные модели контаминации бактериальными штаммами нанотекстурированных поверхностей с экстремальной смачиваемостью, имитирующие различные условия распространения ESKAPE-патогенов, вместе с

разработанной методикой оценки антибактериальной активности могут быть использованы для определения бактерицидного эффекта поверхностей, обладающих антибактериальными свойствами.

Результаты диссертационной работы внедрены в педагогический процесс кафедры клинической микробиологии и фаготерапии факультета дополнительного профессионального образования Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова» Министерства здравоохранения Российской Федерации при изучении дисциплин «Фаготерапия, фагопрофилактика, клиническая и лабораторная диагностика инфекционных заболеваний с применением бактериофагов», «Вопросы бактериологии» читаемых слушателям кафедры по специальности «Бактериология» (акт внедрения от 14.04.22 г.). Аналитическая методика контроля показателя «Антибактериальная активность» бактерицидных поверхностей внедрена в практическую деятельность лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (акт внедрения от 18.05.22 г.).

Методология и методы исследования

Методология настоящего исследования спланирована в соответствии с поставленной целью. Объектами исследования стали супергидрофильные и супергидрофобные нанотекстурированные пластины металлов, штаммы УПМ, бактериофаги, изолированные из клинического материала от пациентов и из объектов окружающей среды. Предметом исследования явилась разработка комплекса бактериофагов с супергидрофильными и супергидрофобными нанотекстурированными поверхностями металлов, снижающего риск возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Научные публикации, посвящённые исследованиям бактериофагов, супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностей металлов проанализированы формально-логическими методами. Для решения

поставленных задач планирование и проведение исследований осуществлялось на основе общенаучных и специфических методов. В работе использованы микробиологические, микроскопические, физическо-химические, статистические методы исследования.

Работа выполнена в рамках НИОКТР ФБУН МНИИЭМ им. С.И. Габричевского Роспотребнадзора «Разработка комплекса бактериофагов с супергидрофильными и супергидрофобными нанотекстурированными поверхностями металлов для снижения риска возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи» (№ АААА-А20-120011690050-1 от 16.01.2020).

Объекты исследования

Супергидрофильные, супергидрофобные нанотекстурированные и контрольные образцы

За время проведения опытов исследовано 2033 супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных образцов пластин из алюминиевого сплава AMG, медного сплава M1M, нержавеющей стали марки 12X18H10T, магниевое сплава M8, изготовленных на базе ИФХЭ им. А. Н. Фрумкина РАН при участии акад. РАН, д.ф.-м.н. Бойнович Л.Б., д.ф.-м.н. Емельяненко А.М., к.ф.-м.н. Емельяненко К.А. следующим образом:

1. Для отработки технологии нанесения культур бактерий на исследуемые образцы пластин изготовлены:

- Супергидрофобные, супергидрофильные, контрольные покрытия поверхности алюминиевого сплава AMG размером $15 \times 15 \times 1$ мм³ со следующим химическим составом (мас. %): Al 95,55, Mg 2,9, Mn 0,2, Cr 0,05, Cu 0,1, Fe 0,4, Si 0,4, Ti 0,1, Zn 0,2 и примеси 0,1; медный сплав M1M следующего химического состава (мас. %): Cu 99,9, Fe 0,005, Ni 0,002, S 0,004, As 0,002, Pb. 0,005, Zn 0,004, Ag 0,003, O 0,05, Sb 0,002, Bi 0,001, Sn 0,002.;
- Супергидрофобные, супергидрофильные, контрольные поверхности покрытий

медного сплава М1М следующего химического состава (мас. %): Cu 99,9, Fe 0,005, Ni 0,002, S 0,004, As 0,002, Pb. 0,005, Zn 0,004, Ag 0,003, O 0,05, Sb 0,002, Bi 0,001, Sn 0,002. Образцы, изготовленные для исследования бактерицидных свойств по протоколам с наслоением капли бактериальной суспензии, имели размер $10 \times 10 \times 1$ мм³, для обеспечения контакта бактерий с исследуемыми образцами пластин в экспериментах с погружением в суспензию использовались пластины $25 \times 25 \times 1$ мм³;

- Супергидрофобные, супергидрофильные, контрольные покрытия из нержавеющей стали марки 12Х18Н10Т размером $15 \times 15 \times 1$ мм³ со следующим химическим составом (мас. %): С 0.1 ± 0.02 , Si $0,8 \pm 0,2$, Ti $0,7 \pm 0,1$, Cr 18 ± 1 , Mn $2 \pm 0,2$, Fe $68,4 \pm 5,3$, Ni $10 \pm 0,7$;
- Супергидрофобные, супергидрофильные, контрольные покрытия из магниевого сплава МА8 размером $20 \times 20 \times 2$ мм³ со следующим химическим составом (мас. %): Mn 1,65, Ce 0,25, Fe 0,05, Si 0,05, Ni 0,007, Al 0,1, Cu 0,05, Be 0,002, Zn 0,04.

2. Для изучения бактерицидных свойств поверхностей изготовлены супергидрофобные, супергидрофильные, контрольные поверхности покрытий медного сплава М1М размером $10 \times 10 \times 1$ мм³ и $25 \times 25 \times 1$ мм³, магниевого сплава МА8 размером $10 \times 10 \times 1$ мм³ и $25 \times 25 \times 1$ мм³, алюминиевого сплава АМГ размером $15 \times 15 \times 1$ мм³, нержавеющей стали марки 12Х18Н10Т размером $10 \times 10 \times 1$ мм³.

3. Для исследования биологических, физико-химических аспектов взаимодействий микроорганизмов с исследуемыми образцами пластин использованы супергидрофобные, супергидрофильные, контрольные поверхности покрытий медного сплава М1М размером $10 \times 10 \times 1$ мм³ и $25 \times 25 \times 1$ мм³, образцы из алюминиевого сплава АМГ размером $15 \times 15 \times 1$ мм³, образцы из магниевого сплава МА8 размером $20 \times 20 \times 2$ мм³.

4. Для анализа антибактериальной активности органо-неорганических гибридных покрытий с сорбированными бактериофагами изготовлены супергидрофобные, супергидрофильные, контрольные поверхности образцов из алюминиевого сплава АМГ размером $15 \times 15 \times 1$ мм³;

5. Для оценки коррозионной стойкости покрытий изготовлены супергидрофобные, контрольные поверхности покрытий медного сплава М1М размером 25×25×1 мм³ и образцы из магниевого сплава МА8 размером 20×20×2 мм³.

Штаммы бактерий

Использованы культуры бактерий из рабочей коллекции лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г. Н. Габричевского Роспотребнадзора, ГНЦ ПМБ (п. Оболенск) (Таблица 1).

Таблица 1 - Культуры микроорганизмов, использованные в диссертационной работе

Название культуры	Номер депонирования, коллекция
<i>A. baumannii B-05</i>	№ В-7705, «ГКПМ - Оболенск»
<i>A. baumannii 1053</i>	№ В-7129, «ГКПМ - Оболенск»
<i>K. pneumoniae B-811</i>	№ В-7707, «ГКПМ - Оболенск»
<i>P. aeruginosa B-3086</i>	№ В-8050, «ГКПМ - Оболенск»
<i>S. aureus 2004</i>	№ В-7710, «ГКПМ - Оболенск»
<i>E. coli K12 C600</i>	№ В-7158, «ГКПМ - Оболенск»

Штаммы бактериофагов

В работе использованы бактериофаги, полученные из рабочей коллекции лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (Киселева И.А., Алешкин А.В.) (Таблица 2).

Таблица 2 - Штаммы бактериофагов, использованные в диссертационной работе

Название штамма	Номер в рабочей коллекции
<i>Acinetobacter phage AM24</i>	Ф5
<i>Klebsiella phage KpV811</i>	Ф1
<i>Pseudomonas phage PA10</i>	Ф2
<i>Staphylococcus phage SCH111</i>	Ф7
<i>Escherichia phage ECD7</i>	Ф18

Материалы исследования

Питательные среды

- Агар Мюллера-Хинтона (МХА) (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия).
- Сердечно-мозговой бульон (СМБ) (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия)
- Сердечно-мозговой агар (СМА) (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия)

- Мясо-пептонный бульон (МПБ)
- Мясо-пептонный агар (МПА)
- Лурия-Бертани бульон (HiMedia Laboratories Pvt Ltd., Индия)

Дисперсионные среды и реактивы

- Фосфатно-солевой буфер (PBS) (Merck (Sigma-Aldrich), Германия).
- Физиологический раствор. Водный раствор хлорида натрия (NaCl) с массовой долей (NaCl) равной 0,9% (рН 7,4).
- Н-гексан для высокоэффективной жидкостной хроматографии, 97,0% (Merck (Sigma-Aldrich), Германия).
- Метокси- {3- [(2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-пентадекафтороктил) -окси] пропил} силан был синтезирован в лаборатории проф. Музафарова А.М. [49].

Методы исследования

Получение суточной культуры бактериальных штаммов

В ампулу с лиофильно высушенной бактериальной культурой асептически вносили 2 мл 0,9% изотонического раствора хлорида натрия. После полного растворения содержимого бактериологической петлей проводили рассев бактериальной культуры из флакона на чашку Петри с 1,5% МХА для получения единичных колоний, инкубировали в термостате в течении 18-24 часов при 37° С. Затем по несколько характерных для каждого штамма колоний пересеивали в пробирки с 4,5 мл МПБ и инкубировали 18-24 часа при 37° С в термостате.

Получение бактериальной суспензии нужного титра

Полученную суточную бульонную культуру бактерий разбавляли (МПБ, PBS или 0,9% раствором хлорида натрия) по отраслевому стандарту мутности (ОСО 42-28-85-2019, ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, г. Москва) до 10 МЕ, что соответствует 10^8 - 10^9 КОЕ/мл. Для получения нужного титра суспензию титровали методом десятикратных разведений, делали высев по 100 мкл на чашки Петри с 1,5% МХА из каждого разведения для подсчёта выросших колоний. Использовали пробирки с бактериальной суспензией того титра, который необходим для проведения

эксперимента.

Определение литической активности бактериофагов

Титра бактериофагов определяли методом агаровых слоев Грациа, который основан на внесении определенного объема титруемого бактериофага в культуру бактерии-хозяина с последующим посевом на плотную питательную среду и получением негативных колоний бактериофага [107]. Предварительное приготовление питательных сред проводили следующим образом: в стерильные чашки Петри разливали по 25 мл заранее приготовленного 1,5% МПА, оставляли при комнатной температуре на 45 минут, а затем помещали в термостат до полного устранения конденсата; пробирки с 2,5 мл 0,7% МПА расплавляли, а затем охлаждали до 48–50 °С. Ряд десятикратных разведений готовили следующим образом: из первой пробирки (куда к 4,5 мл МПБ предварительно добавили 0,5 мл бактериофага) в 9 других, содержащих 4,5 мл МПБ, последовательно переносили 0,5 мл содержимого и тщательно смешивали пипетированием. В пробирку с 0,7% МПА вносили 1 мл из соответствующего разведения бактериофага и 0,2 мл в титре 10^9 КОЕ/мл культуры бактерии-хозяина, слегка перемешивали и выливали в чашку с МПА, распределяя равномерно по поверхности агара. Чашку при комнатной температуре оставляли на 45 мин до полного охлаждения агара, а далее помещали в термостат на 18–24 ч и выдерживали при температуре, оптимальной для роста микроорганизмов. Далее определяли количество бляшкообразующих единиц (БОЕ) бактериофага в 1 мл путем подсчета отдельных участков лизиса (колоний фага) на фоне сплошного роста бактериальной культуры.

Сканирующая электронная микроскопия

Морфологию образцов пластин до и после контаминации штаммами бактерий анализировали с помощью системы автоэмиссионной сканирующей электронной микроскопии (FE-SEM), с помощью сканирующего электронного микроскопа с полевым катодом, колонной электронной оптики GEMINI и полностью безмаслянной вакуумной системой с режимом работы на низком вакууме (VP)

SUPRA 40 VP (Carl Zeiss, Германия). Изображения FE-SEM записаны в режимах регистрации вторичных электронов (SE) и обратно рассеянных электронов (BSE) при ускоряющих напряжениях от 1 до 5 кВ и токах до 50 пА.

Энергодисперсионная рентгеновская спектроскопия

Элементный состав образцов изучали методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии (EDX) энергодисперсионным детектором X-MAX (Oxford Instruments, Хай-Уиком, Великобритания).

Получение супергидрофильного и супергидрофобного покрытия исследуемых образцов

Текстурирование поверхности, ведущей к иерархической (мультимодальной) морфологии поверхности, является необходимым этапом для получения как супергидрофобного, так и супергидрофильного состояния металлической поверхности [48, 51]. Для супергидрофильной поверхности значение поверхностной энергии велико, и водная капля полностью растекается по образцу (угол смачивания равен 0°). Супергидрофобная поверхность характеризуется низкой поверхностной энергией и отталкиванием водной фазы. Водная капля смачивает супергидрофобную поверхность в режиме гетерогенного смачивания и образует с подложкой большой угол смачивания, превышающий 150° . Для такого текстурирования поверхности в работе использована лазерная установка «Аргент-М» (Россия) с волоконным иттербиевым лазером ИК (длина волны 1,064 мкм), оснащённая устройством двухосного отклонения луча.

Перед лазерной обработкой образцы из алюминия, меди, нержавеющей стали, магния обезжировали в 1 М растворе КОН, промывали ультразвуком в деионизированной воде и сушили на воздухе. Лазерная обработка проведена в открытой атмосфере, в условиях окружающей среды, при влажности 40-50% и температуре 20-25° С. Процедуры обработки, используемые для изготовления супергидрофобных и супергидрофильных образцов для изучения антибактериальной активности представлены на рисунке 1.

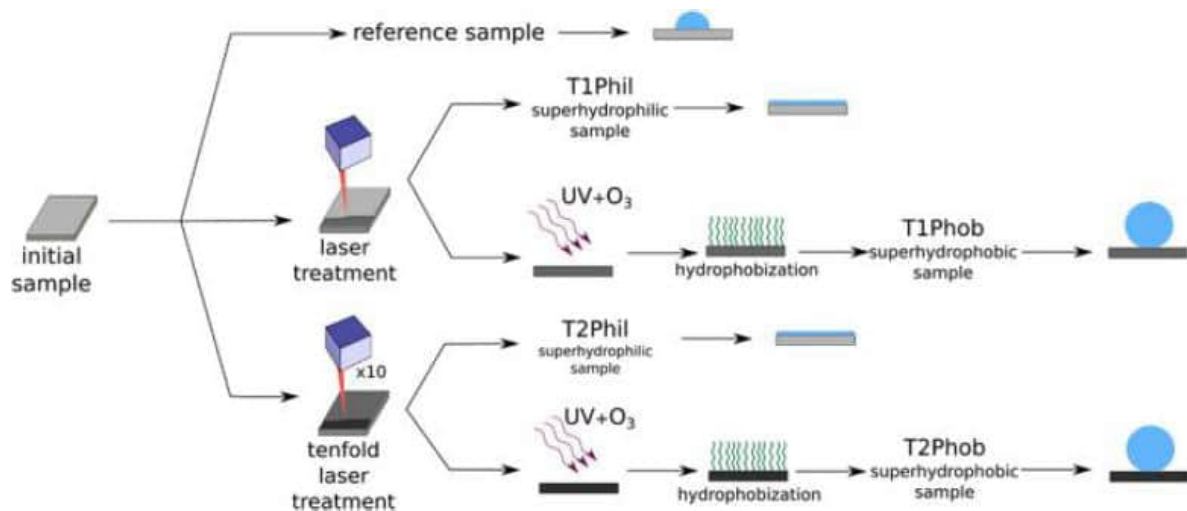


Рисунок 1 - Схема изготовления исследуемых образцов из алюминия, меди, нержавеющей стали, магния [47]

Изготовлены два типа текстур с разными режимами лазерной обработки. Первый тип текстуры (T1), характерный для образцов T1Phil и T1Phob (супергидрофильный и супергидрофобный соответственно), получен однократным растровым сканированием лазерным лучом с линейной скоростью 50 мм/с с шагом параллельных линий 0,025 мм, длительностью импульса 50 нс, частота повторения 20 кГц и пиковая мощность 0,95 мДж в режиме TEM₀₀. Второй тип текстуры (T2), характерный для образцов T2Phil и T2Phob, получен 10-кратным растровым сканированием лазерного луча с линейной скоростью 50 мм/с с шагом параллельных линий 0,1 мм, длительностью импульса 50 нс, частотой повторения. 20 кГц, пиковая мощность 0,95 мДж в режиме TEM₀₀. В обоих режимах лазерной обработки лазерный луч фокусировался в фокальное пятно шириной 40 мкм (уровень 1/e²) с максимальной плотностью энергии приблизительно 19 Дж/см² на поверхность образца. После лазерной обработки в любом из режимов поверхность металла становилась супергидрофильной с быстрым полным растеканием капли воды, касающейся поверхности. Для изготовления супергидрофобных поверхностей на обоих типах образцов с лазерной текстурой их поверхностная энергия должна быть уменьшена. Для этой цели использован хемосорбированный метокси- {3 - [(2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8 - пентадекафтороктил) окси] пропил} силан. Для усиления хемосорбции фтороксисилана на текстурированной поверхности алюминия перед его

осаждением образцы подвергали обработке УФ-озоном (Bioforce Laboratories) в течение 90 мин, что приводило к прививке поверхностных гидроксильных групп, служащих химически активными центрами. В качестве контрольных образцов использовались пластины без лазерной обработки.

При изготовлении медных образцов для обработки поверхности использована лазерная система «Аргент-М» (Россия) с ИК-иттербиевым волоконным лазером (длина волны 1,064 мкм), оснащенная 2-осевым устройством отклонения луча. Перед лазерной обработкой образцы промывали в деионизированной воде ультразвуком и сушили на воздухе. Лазерная обработка проводилась в атмосфере чистого кислорода при температуре 20-25° С. Иерархическая шероховатость образцов SHPhil и SHPhob (супергидрофильная и супергидрофобная соответственно получена путём однопроходного растрового сканирования лазерного луча с линейной скоростью 100 мм/с с шагом параллельных линий 0,0025 мм, длительностью импульса 200 нс, частотой повторения 20 кГц и пиковой мощностью 0,95 мДж в режиме TEM₀₀. Лазерный луч фокусировался на поверхность образца в фокусное пятно шириной 40 мкм (уровень 1/e²) с пиковой плотностью энергии ≈19 Дж/см². Режим лазерной абляции с последующим осаждением наночастиц, образующихся в лазерном факеле, на горячую обработанную поверхность приводил к формированию на поверхности меди микроканалов с наплавленными на микротекстуру наночастицами. Готовая поверхность сразу после лазерной обработки была супергидрофильной, что подтверждается быстрым полным растеканием и растеканием капли воды поверхностью. Для подготовки супергидрофобных поверхностей на образцы, подвергнутые лазерной обработке, дополнительно воздействовали в герметичном сосуде насыщенными парами метокси - {3 - [(2,2,3,3,4,4,5,5,6,6,7,7,8,8,8-пентадекафтороктил) окси] пропил} силана в течение 1 ч при T=95° С. Последующая сушка в течение 1 ч в печи при 130° С приводила к образованию сшитого слоя гидрофобного агента с низкой поверхностной энергией и к достижению супергидрофобного состояния обработанной лазером поверхности. В

качестве образцов сравнения использованы пластины М1М без лазерной обработки.

Метод исследования динамики смачиваемости поверхности исследуемых образцов

Чтобы охарактеризовать смачиваемость супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных образцов, использованных в исследовании, проведено измерения краевых углов с использованием самодельной экспериментальной установки для записи оптических изображений лежащих капель и программного обеспечения для цифровой обработки видеоизображений капель и последующего определения параметров капли [87].

Краевые углы измеряли для капли суспензии объёмом 10 мкл. Для контроля параметров капли, таких как угол смачивания, диаметр основания, объём капли и поверхностное натяжение капли во время длительного контакта с супергидрофобными подложками, капля дисперсии наносилась на подложку внутри двустенной ячейки [53].

Для измерения углов скатывания капли наносили на горизонтально расположенную подложку, закреплённую на оси поворотного держателя с нониусной шкалой. После уравнивания исходной формы капле использован контролируемый наклон подложки, и определён угол наклона, при котором начиналось движение капли. Результаты усредняли не менее чем по 10 различным каплям на одной и той же подложке.

Исследования электрокинетических характеристик бактерий и бактериофагов

Для измерения дзета-потенциалов бактерий и бактериофагов использовался прибор производства Malvern Instruments Ltd (Великобритания), модель ZS серии Zetasizer Nano с кюветой DTS1070, согласно инструкции производителя. Для каждой дисперсии с заданным значением рН выполнялось по пять измерений, каждое из которых получалось усреднением по не менее, чем 20 сканированиям ячейки с дисперсией.

Определение концентрации ионов меди и магния в дисперсионной среде

Образец, содержащий 1 мл бактериальной суспензии, вносили в пробирку и центрифугировали при 14000 об/мин в течение 10 мин (Центрифуга G-L, ИКА, Германия). Масс-спектрометр с индуктивно связанной плазмой (ICP-MS) Agilent 7500CE (Agilent Technologies, Санта-Клара, Калифорния, США) с программой «ICP-MS-Top» (Agilent Technologies, США) использовали для определения концентрации ионов.

Для разложения образцов к каждой пробе добавляли 0,01 М раствора концентрированной азотной кислоты высокой степени очистки (65 масс. %) (Sigma-Aldrich, Берлингтон, Вирджиния, США) и выдерживали при 60° С в течение 40 мин в шкафу с ламинарным потоком. Полученный раствор вносили прямо в прибор. Контрольные пробы исследовали так же. Затем среднюю концентрацию магния или меди в контрольных пробах вычитали из измеренной концентрации в каждой опытной пробе, чтобы получить окончательную зарегистрированную концентрацию этого элемента. Показано, что фоновая концентрация меди составляет менее 0,2 мкг/л. Для оценки возможных эффектов дрейфа каждый образец проанализирован трижды.

Определение рН дисперсионной среды

Измерение рН в суспензиях бактерий проводили с помощью микроэлектрода ЭСК-10614 (ООО «Измерительные технологии», Москва, Россия).

Статистические методы

Статистическая обработка данных проведена с использованием пакета программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 8.0 [8, 16, 21]. Критерий Колмогорова-Смирнова, коэффициенты асимметрии и эксцесса использовали для проверки нормальности распределения количественных показателей. Так как переменные соответствовали нормальному распределению оценку различий между выборками проводили с использованием U- критерия Манна-Уитни. В анализе использованы следующие статистические показатели: n - число наблюдений; М - медиана; 25Q - нижний квартиль; 75Q - верхний квартиль; р - коэффициент достоверности.

Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$, что соответствует требованиям, предъявляемым к медико-биологическим исследованиям.

Личное участие автора в получении результатов

Автором проведен аналитический обзор научной литературы и составлен план исследования. В лаборатории клинической микробиологии и биотехнологии бактериофагов ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора при участии к.б.н. Киселевой И.А., к.б.н. Зулькарнеева Э.Р. и Мехтиева Э.Р. исследованы биологические и физико-химические аспекты взаимодействия клеток бактерий, бактериофагов и текстурированных поверхностей. Отработана оригинальная методика сорбции бактерий и бактериофагов на нанотекстурированные поверхности металлов.

Разработана ESKAPE-элиминирующая бионаноструктурированная композиция. Оценена антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных поверхностей из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали. Оценена антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных поверхностей из алюминия и меди импергнированных бактериофагами.

Изготовление супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных образцов пластин из алюминия, меди, нержавеющей стали, магния проводилось на базе ИФХЭ им. А. Н. Фрумкина РАН под руководством акад. РАН, д.ф.-м.н. Бойнович Л.Б. совместно с д.ф.-м.н. Емельяненко А.М. и к.ф.-м.н. Емельяненко К.А. Определение концентрации ионов Cu^{2+} и Mg^{2+} в дисперсионной среде проводилось на базе ИФХЭ им. А. Н. Фрумкина РАН при участии с к.х.н. Пыцкого И.С. Электронная микроскопия исследуемых образцов была выполнена на базе ИОНХ им. Н. С. Курнакова РАН при участии к.т.н. Домантовского А.Г. Исследования динамики смачиваемости поверхности исследуемых образцов проводилось на базе ИФХЭ РАН при участии Чулковой Е.В. Исследования электрокинетических характеристик бактерий и бактериофагов проводились на базе ИФХЭ им. А. Н. Фрумкина РАН совместно с акад. РАН, д.ф.-м.н. Бойнович

Л.Б., д.ф.-м.н. Соболевым В.Д. и Цыпленковой А.В.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Истинным бактерицидным эффектом обладают супергидрофильные поверхности, в то время как супергидрофобные поверхности металлов препятствуют первичной адгезии бактерий.

2. Комплекс бактериофагов и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностей обладает более высокой антибактериальной активностью, чем каждый из компонентов в отдельности.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов основана на достаточном объеме выборки исследуемых образцов (2033 супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных пластин из алюминия, меди, нержавеющей стали, магния), применении современных и традиционных микробиологических и физико-химических методов. Проведенное системное микробиологическое и физико-химическое исследование взаимодействия штаммов микроорганизмов и исследуемых поверхностей металлов с экстремальной смачиваемостью позволило получить данные, сопоставимые с данными других исследователей в сфере микробиологии и биотехнологии.

Диссертация апробирована на заседании секции "Медицинская Биотехнология" Ученого совета ФБУН МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора (протокол №4 от 05.12.2022 г.).

Материалы и результаты исследований были представлены на Российских и международных конгрессах и конференциях: XVI Международная конференция "Поверхностные силы" (Россия, г. Казань, 20-25 августа 2018 г.), IV научно-практическая конференция с международным участием «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности» (Россия, г. Нижний Новгород, 24-26 сентября 2018

г.), X Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены», (Россия, Московская обл., д. Лужки, 23-26 октября 2018 г.), XI Всероссийский семинар "Физикохимия поверхностей и наноразмерных систем" (Россия, г. Москва, 6-7 февраля 2019 г.), 33rd Conference of The European Colloid and Interface Society (Бельгия, г. Лёвен, 9-13 сентября 2019 г.), XI Всероссийская научно-практическая конференция молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора «Современные проблемы эпидемиологии, микробиологии и гигиены» и ежегодное заседание Совета молодых ученых и специалистов Роспотребнадзора (Россия, г. Уфа, 2-4 октября 2019 г.), XXIII Всероссийская конференция с международным участием по неорганическим и органосиликатным покрытиям (г. Санкт-Петербург, 7-9 октября 2019 г.), XI Всероссийский семинар «Физикохимия поверхностей и наноразмерных систем» (Россия, г. Москва, 4-6 февраля 2020 г.), 35th conference of European Colloid and Interface Society (ECIS 2021) (Греция, г. Афины, 5-10 сентября 2021 г.).

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. ИСМП - глобальная проблема современной медицины

Оказание медицинской помощи напрямую сопряжено с риском развития инфекционных осложнений, что на фоне растущей антибиотикорезистентности и дефицита новых АМП создает высокую актуальность безопасности лечебных и профилактических мероприятий. Частота возникновения ИСМП, возникающих у пациентов и медицинского персонала при осуществлении лечебно-профилактических мероприятий в стационарах, поликлиниках, на дому, по ургентным показаниям являются одним из важнейших показателей системы современного здравоохранения. ИСМП, признаны серьёзной проблемой, влияющей на качество общей медицинской помощи во всем мире. В мире ежегодно около 700 тыс. человек умирают от инфекций, вызванных антибиотикорезистентными штаммами бактерий [200, 255]. Прогнозируется, что в случае, если устойчивость к АМП продолжит расти, то к 2050 году мировая экономика потратит 100 триллионов долларов США, при этом ежегодно ИСМП будут уносить жизни более 10 миллионов человек [200, 255].

1.1.1. Распространённость ИСМП в РФ, Европе, США, Китае

Накопление медицинских знаний об эпидемиологии ИСМП, и развитие концептуальных подходов к их профилактике представляет эволюционно связанный процесс. Стратегическое понимание проблемы формируется благодаря предшествующим историческим предпосылкам и, в конечном итоге, отражается в регламентирующих документах ведущих организаций здравоохранения мира в конце 20 века [9]. Современный научно-обоснованный подход к проблеме инфекционных болезней отчётливо показывает, что ни один тип учреждения здравоохранения ни в одной стране мира не может избежать риска возникновения ИСМП.

В 1999 г. была разработана и утверждена Концепция профилактики внутрибольничных инфекций в Российской Федерации и началась официальная

регистрация внутрибольничных инфекций. Далее 06.11.2011 г. была утверждена Национальная Концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. В ней вводится понятие ИСМП, таким образом, это понятие соответствует терминологии ВОЗ и адаптирует отечественные нормативные документы к международным стандартам [12, 24]. Концепция раскрывает цель, принципы, структуру, основные направления улучшения системы профилактики ИСМП, механизмы обеспечения её функционирования и ожидаемый социально-экономический эффект [15].

По данным официальной статистики в Российской Федерации ежегодно регистрируется примерно 25-30 тыс. случаев ИСМП, однако исследователи считают, что их истинное количество составляет не менее 2-2,5 млн. человек [1]. При проведении углублённого анализа заболеваемости Референс-центром по мониторингу за ИСМП ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора по данным от 52 субъектов Российской Федерации в 2018 г в медицинских организациях этих субъектов зарегистрировано 18294 случая ИСМП. Из них наибольший удельный вес принадлежал инфекциям нижних дыхательных путей (33,8%), инфекциям области хирургического вмешательства (20,3%), инфекциям мочевыводящих путей (11,7%), ИСМП новорожденных (9,9%) [4]. Установлено, что этиологическая расшифровка ИСМП проведена в 76% случаев, с показателями в отдельных областях до 4,8%, что является нарушением требований санитарного законодательства (СанПиН 2.1.3.2630-10) и дополнительно свидетельствует о необходимости неспецифической профилактики инфекционных осложнений [4].

По результатам исследования, проведённого в 10 штатах и 199 больницах в США, из 12299 пациентов ИСМП выявлены у 3,2% обследованных. Наиболее распространённые нозологические формы: пневмония (25,8%), инфекции желудочно-кишечного тракта (21,31%), инфекции области хирургического вмешательства (16,15%), инфекции кровотока (12,18%), инфекции мочевыводящих путей (9,13%). При этом выделялись следующие

микроорганизмы: *Clostridium difficile*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Candida spp.*, *Enterococcus spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca* [173]. Агентство по исследованиям и качеству здравоохранения сообщило, что ИСМП являются наиболее частыми осложнениями стационарного лечения и одной из 10 основных причин смертности в США [113].

Азиатско-Тихоокеанский регион является географическим источником новых инфекционных заболеваний, в том числе организмов с МЛУ и патогенных микроорганизмов с пандемическим потенциалом. Риски возникновения инфекционных заболеваний в этом географическом регионе сложные, включают экологические, социально-экономические, технологические процессы, благоприятствующие динамике распространения микроорганизмов [36]. Китайская Народная Республика является крупнейшим экономическим субъектом в регионе и сталкивается с аналогичными глобальными проблемами здравоохранения в отношении ИСМП и возникающей устойчивости к АМП, как и другие страны в регионе [36, 270]. В 2006 году министерство здравоохранения КНР опубликовало приказ № 48 «Административные меры по борьбе с больничными инфекциями», который отражает руководящие принципы, определяющие элементы организации инфекционного контроля на уровне больниц [187]. Правительство КНР предприняло огромные усилия по управлению использованием АМП. В 2011 году в сочетании с новыми реформами в области здравоохранения Национальная комиссия здравоохранения КНР (ранее Министерство здравоохранения Китая) изменила стратегию и запустила специальную кампанию по содействию рациональному использованию АМП в медицинских учреждениях. Она заключалась в разработке обязательных стратегий управления, таких как постановка целей, организация рабочей среды, разработка систем аудита и инспекции [288]. Ввиду бесконтрольного назначения и продажи АМП, на фоне растущей антибиотикорезистентности в КНР, предприняты меры, ведущие к снижению оборота АМП и их использования у

стационарных и амбулаторных пациентов [288]. В 2018 году аккредитация больниц проводилась в соответствии со стандартом здравоохранения КНР «Нормы оценки профилактики и контроля госпитальных инфекций» (WS/T 592-2018) [194], что значительно усилило инфекционный контроль в регионе. По результатам исследования в 2015 году в 52 больницах среди 53939 пациентов у 3,7% зафиксировано не менее одного случая ИСМП. Наиболее распространёнными являлись инфекции нижних дыхательных путей (47,2%), за которыми следовали инфекции мочевыводящих путей (12,3%), инфекции верхних дыхательных путей (11,0%), инфекции области хирургического вмешательства (6,2%), инфекции кожи, первичная инфекция кровотока (4,4%) и мягких тканей (5,2%). Катетер-ассоциированные инфекции кровотока и мочевыводящих путей вместе с вентилятор-ассоциированными пневмониями вместе составили 7,9% всех ИСМП. Распространённость ИСМП среди пациентов из отделений интенсивной терапии самая высокая (17,1%). Наиболее часто выделяемые микроорганизмы: *P. aeruginosa* (9,4%), *A. baumannii* (7,9%), *K. pneumoniae* (7,3%), *E. coli* (6,6%) [67].

Распространённость пациентов с хотя бы одним ИСМП в странах Европейского союза и Европейской экономической зоны составила в среднем 5,9% всех госпитализированных пациентов в больницы неотложной помощи. Наиболее часто встречаются инфекции дыхательных путей (21,4% пневмония и 4,3% - другие инфекции нижних дыхательных путей), инфекции мочевыводящих путей (18,9%), инфекции в области хирургического вмешательства (18,4%), инфекции кровотока (10,8%), желудочно-кишечные инфекции (8,9%). Наиболее часто выделялись *E. coli* (16,1%), *S. aureus* (11,6%), *Klebsiella spp.* (10,4%), *Enterococcus spp.* (9,7%), *P. aeruginosa* (8,0%), *C. difficile* (7,3%), коагулазонегативные стафилококки (7,1%), *Candida spp.* (5,2%), *Enterobacter spp.* (4,4%), *Proteus spp.* (3,8%) [254].

1.1.2. Экономический ущерб и смертность от ИСМП

При подсчёте общих затрат, связанных с проведением антибактериального лечения, увеличением койко-дней, дополнительными мероприятиями

инфекционного контроля, непрямыми затратами вследствие временной нетрудоспособности в многопрофильных стационарах РФ в 2016 г. на лечение инфекций, вызванных только тремя микроорганизмами: *K. pneumoniae*, резистентными к цефалоспорином 3 поколения и карбапенемам, *E. coli*, резистентными к цефалоспорином 3 поколения и метициллинрезистентным *S. aureus* было потрачено 13,7 млрд рублей [10]. По данным экспертов общий экономический ущерб в Российской Федерации от ИСМП может достигать 300 млрд рублей в год [1].

В США ИСМП приводят примерно к 100 тыс. смертей в год и добавляют 35,7-45 млрд долларов к расходам на здравоохранение. Пациенты с ИСМП имеют более длительный срок пребывания в больнице (21,6 против 4,9 дней), более высокие показатели повторной госпитализации в течение 30 дней (29,8% против 6,2%), более высокую смертность (9,4% против 1,8%) [236].

Ежегодный экономический ущерб в странах Европы от ИСМП составляет около 13-24 млрд евро [1]. В Великобритании экономический ущерб составляет около 1 млрд фунтов стерлингов в год, а стационарное лечение пациентов увеличивается на 3,6 млн дней [1]. В 2016 году Европейский центр профилактики и контроля заболеваний (ECDC) подсчитал, что экономическое бремя шести основных типов ИСМП (пневмонии, инфекции мочевыводящих путей, хирургические инфекции, инфекция *Clostridium difficile*, сепсис новорожденных и первичная инфекция кровотока) в Европейском союзе и Европейском экономическом пространстве (ЕС/ЕЭЗ), выше, чем совокупное бремя 32 других инфекционных заболеваний, включенных в исследование [62, 63].

1.1.3. ESKAPE-патогены – основные возбудители ИСМП

Staphylococcus aureus

S. aureus - грамположительная условно-патогенная факультативно-анаэробная бактерия, обычно локализуется в передних носовых ходах, глотке, промежности, коже [18, 235]. Примерно 30% здорового населения являются носителями *S. aureus*. Однако он может вызывать широкий спектр заболеваний от инфекций с

благоприятным прогнозом (например, фолликулит) до потенциально опасных для жизни (например, инфекции кровотока) [260]. ИСМП, вызываемыми *S. aureus*, являются инфекции области хирургического вмешательства, инфекции кровотока и пневмония [260], влекущие за собой увеличение заболеваемости, смертности, длительности пребывания в стационаре, риска повторных госпитализаций и расходов на здравоохранение [148]. Появление и использование пенициллина и метициллина в середине XX века первоначально доказали свою эффективность против *S. aureus*. Приобретённая устойчивость к β -лактамам AMП MRSA значительно усложнили терапию вызванных им инфекций. Несмотря на достигнутый прогресс, MRSA остается значительной угрозой для здоровья человека во всем мире [142]. Гликопептидный AMП ванкомицин доказал свою высокую эффективность и является препаратом выбора при лечении инфекций, вызванных MRSA [252]. Клинические изоляты *S. aureus* с умеренной чувствительностью и, реже, с полной устойчивостью к ванкомицину все чаще появляются в течение последних десятилетий [70].

Klebsiella pneumoniae

K. pneumoniae грамотрицательная факультативно-анаэробная бактерия, представитель рода *Klebsiella* семейства *Enterobacteriaceae*, впервые описана Карлом Фридендером в 1882 году как бактерия, выделенная из лёгких пациентов, умерших от пневмонии [11, 18] Резервуаром бактерии является окружающая среда: вода, сточные воды, почва, поверхности растений [23]. *K. pneumoniae* является возбудителем инфекций кровотока, дыхательных и мочевыводящих путей. Зачастую эти инфекции возникают у пациентов с ослабленным иммунитетом или госпитализированных пациентов и обычно лечатся β -лактамами и другими AMП, эффективными в отношении бактерий семейства *Enterobacteriaceae* [17, 122]. Наличие природной устойчивости к ампициллину благодаря наличию пенициллиназы SHV-1 в их хромосоме [122] и приобретённой устойчивости к AMП [287] значительно затрудняют этот процесс. Гены устойчивости, впервые обнаруженные у *K. pneumoniae*, сейчас широко

распространены у представителей всего семейства *Enterobacteriaceae* [160], представителей рода *Acinetobacter* и *Pseudomonas* [217]. Наиболее распространённым геном β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) является СТХ-М, варианты которого обнаружены у *E. coli* и *K. pneumoniae* в конце 1980-х и начале 1990-х годов [72]. Этот ген присутствует в разнообразных плазмидах, что приводит к его широкому распространению в ЛПО, среди представителей нормальной микрофлоры человека и животных [182, 281]. Внедрение в практику антибиотиков группы фторхинолонов и карбапенемов в конце 20 века сопровождалось быстрым появлением генов устойчивости к ним. Впервые идентифицированные у *K. pneumoniae* мобильные гены устойчивости к хинолону *qnrA* сейчас широко распространены среди плазмид других представителей семейства *Enterobacteriaceae* [149]. Карбапенемаза *K. pneumoniae* (KPC), которая появилась в это время в США, способствовала распространению штамма *K. pneumoniae* ST258, который в настоящее время распространён по всему миру, а ген KPC широко распространён среди других представителей *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* и *Acinetobacter* [181, 182, 192]. О карбапенемазе ОХА-48, которая изначально была обнаружена у *K. pneumoniae* в Турции в 2001 году и связана со вспышками в больницах по всей Европе, теперь сообщается во всем мире [11, 176]. Металло-бета-лактамаза *NDM-1* впервые обнаружена в 2008 году у *K. pneumoniae* пациента, недавно вернувшегося из Индии, позднее была обнаружена в *NDM-1* штаммах *K. pneumoniae* распространенных в других странах мира [11]. Уже к 2010 году *NDM-1* распространился другие виды семейства *Enterobacteriaceae* и был обнаружен в хромосомах *E. coli* и *Providencia stuartii*, а далее на представителей рода *Acinetobacter*, *Pseudomonas* и *Vibrio* [215, 287]. Впервые зарегистрированный мобильный ген устойчивости к колистину MCR-1 у *E. coli* и *K. pneumoniae* в Китае в 2015 г. уже в следующем году был обнаружен на пяти континентах у бактерий рода *Enterobacter* и других видов [166, 273].

Существует значительная сложность определения потоков распространения бактерий, плазмид, генов участвующих в захвате и дальнейшем распространении

генов антибиотикорезистентности из микроорганизмов окружающей среды к бактериям, связанным с человеком. Однако, переход генов устойчивости к антибиотикам *qnrA* и *OXA-48* от морских бактерий к *K. pneumoniae* и далее к другим ESKAPE-патогенам имеют убедительные примеры. Доминирование *K. pneumoniae* среди ранних клинических сообщений о новых генах антибиотикорезистентности является значительным и указывает на то, что она является главной мишенью эпиднадзора за новыми генами антибиотикоустойчивости, попадающими в популяции грамотрицательных патогенов.

Acinetobacter baumannii

Среди видов рода *Acinetobacter* *A. baumannii* является наиболее важным представителем, связанным с внутрибольничными инфекциями во всем мире. Это неферментатирующая глюкозу, неподвижная, каталазо-положительная, оксидаза-отрицательная, аэробная грамотрицательная бактерия [18, 163]. Инфекции, вызванные *A. baumannii*, составляют 0,7-4,6% всех случаев возникновения инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, вызванных грамотрицательными аэробными и факультативно анаэробными микроорганизмами в Азии, Африке, Европе, Латинской Америки, Ближнем Востоке и Северной Америке. При этом практически половина всех изолятов *A. baumannii* являются штаммами с МЛУ, в то же время в Латинской Америке и Ближнем Востоке этот показатель более 93%, что в несколько раз выше МЛУ штаммов *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* [170]. *Acinetobacter spp.* с МЛУ был классифицирован Центром по контролю и профилактике заболеваний США в качестве серьезной угрозы, что побуждает к постоянному мониторингу и профилактике [132, 133]. ВОЗ включила устойчивые к карбапенемам *A. baumannii* в критическую группу в списке бактерий, представляющих наибольшую угрозу для здоровья человека, отдавая приоритет исследованиям и разработкам новых АМП [244].

Чаще всего инфекции *A. baumannii* проявляются в виде вентилятор-

ассоциированной пневмонии или катетер-ассоциированных инфекций кровотока [246]. Реже *A. baumannii* вызывает инфекции мягких тканей, кожи, хирургических ран, катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей [246, 277]. Сообщается о внебольничных инфекциях, вызванных *A. baumannii* [79].

Pseudomonas aeruginosa

P. aeruginosa - неферментирующая грамотрицательная бактерия, принадлежащая к семейству *Pseudomonadaceae* [18]. Часто встречается во влажной среде и может вызывать инфекции, особенно у пациентов ОРИТ и лиц с ослабленным иммунитетом [39]. Многочисленные вспышки связаны с неисправным или загрязнённым оборудованием и медицинскими изделиями, с персоналом и резервуарами окружающей среды, при перекрёстном заражении внутри стационара [141, 258]. Геном *P. aeruginosa*, кодирующий большую долю регуляторных ферментов, важных для обменных процессов, чем геном других бактерий, обеспечивает большую метаболическую гибкость и высокие адаптивные способности к изменениям окружающей среды, обуславливая способность микроорганизма выживать в самых различных условиях окружающей среды, на медицинском оборудовании, в системах водоснабжения, медицинских изделиях и в присутствии ряда дезинфицирующих средств [39, 94, 206, 247].

P. aeruginosa является патогеном, осложняющим течение муковисцидоза, приводящим к хронизации процесса и высокой смертности [232]. *P. aeruginosa* вызывает более 5% инфекционных обострений у пациентов с хронической обструктивной болезнью лёгких и связана с повышенной смертностью этих пациентов [206].

P. aeruginosa является одним из наиболее распространённых возбудителей ИСМП и вентилятор-ассоциированной пневмонии в частности [42].

Эмпирическая монотерапия и комбинированная антибиотикотерапия инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, снижает смертность у пациентов с тяжёлыми инфекциями [207]. Это становится всё сложнее и сложнее из-за растущей

антибиотикорезистентности этого микроорганизма [189]. ВОЗ включила устойчивую к карбапенемам *P. aeruginosa* в список бактерий, для которых существует острая необходимость в разработке новых АМП [257].

Антибиотикорезистентность *P. aeruginosa* можно разделить на адаптивную, приобретённую и внутреннюю: адаптивная устойчивость обуславливается способностью к формированию биоплёнок, которые служат барьером для доступа АМП к бактериальным клеткам; приобретённая устойчивость формируется за счет геномных мутаций и транспонируемых генетических элементов; внутренняя устойчивость *P. aeruginosa* определяется активным выведением (эффлюксом) и выработкой ферментов, блокирующих действие антибиотиков и низкой проницаемостью наружной мембраны [206]. Таким образом формируется устойчивость *P. aeruginosa* к аминогликозидам, β -лактамным антибиотикам и хинолонам. В биоплёнке могут образовываться клетки-персистеры, обладающие МЛУ, способные пережить воздействие АМП. Эти клетки ответственны за длительные и рецидивирующие инфекции у пациентов с муковисцидозом [232]. В последние годы исследованы новые АМП с новыми механизмами действия, новые пути введения и устойчивость к модификации бактериальными ферментами. Некоторые из этих новых АМП демонстрируют превосходную антибактериальную активность *in vitro* против *P. aeruginosa*, более низкую МИК по сравнению с традиционными АМП [69, 268]. Сообщалось о новых неантибиотических терапевтических подходах, которые высокоэффективны для уничтожения устойчивых к АМП штаммов *P. aeruginosa*. Они включают: ингибирование quorum sensing и бактериальных лектинов, использование хелатирования железа, фаготерапию, вакцинацию, наночастицы, антимикробные пептиды, электрохимические каркасы и могут использоваться как альтернатива АМП [65].

1.1.4. Антибиотикорезистентность и устойчивость к дезинфектантам ESKAPE-патогенов

Кризис устойчивости к АМП и угроза, которую он представляет для будущих

поколений, носит глобальный характер [80]. Несмотря на достаточную осведомлённость, достигнут лишь незначительный прогресс при преодолении кризиса, устойчивость микроорганизмов к АМП продолжает расти. На протяжении всего периода использования АМП резистентность к ним возникала и быстро распространялась, часто в течение нескольких лет после введения того или иного класса АМП в клиническое использование. Причины этого сложны и многофакторны. Во-первых, как и у большинства АМП, механизмы устойчивости к ним являются древними и разнообразными и существовали, хотя и на более низких уровнях, до использования АМП [73]. Во-вторых, количество бактерий настолько велико, что даже редких мутаций достаточно, чтобы сделать возможным селекцию устойчивости. В-третьих, генетические элементы, кодирующие устойчивость к АМП, зачастую мобильны и легко передаются путём горизонтального переноса генов даже между разными видами бактерий [22, 99, 210]. Эти явления вызывают тревожное распространение устойчивости к «антибиотикам стратегического запаса», таким как колистин и ванкомицин [166, 185]. Решение проблемы антибиотикорезистентности требует многостороннего подхода, включая контроль использования существующих АМП, разработку новых классов АМП, альтернативные стратегии лечения или профилактики бактериальных инфекций [71]. Систематический обзор клинического и экономического воздействия устойчивости к АМП показывает, что инфекции, вызванные ESKAPE-патогенами, обладают самым высоким риском смертности, что приводит к увеличению затрат на здравоохранение [96].

Одними из лучших способов борьбы с бактериальным загрязнением в промышленности и медицине являются профилактическая стратегия использования дезинфицирующих средств и улучшение условий биобезопасности [55].

Дезинфицирующие средства широко используются в большинстве стран и имеют жизненно важное значение для обеспечения стандартов качества продукции и сохранения здоровья населения. Они широко используются в

пищевой промышленности, сельском хозяйстве, медицинских учреждениях, домашних хозяйствах, в косметологии и на фармацевтическом производстве [140]. Это вызывает тревогу в связи с тем, что резистентность к таким классам препаратов развивается быстрыми темпами [276]. Движущая сила появления устойчивости к этим средствам может быть в значительной степени обусловлена чрезмерным и неправильным использованием дезинфектантов, отсутствием понимания принципов биобезопасности [229]. Использование любых противомикробных агентов, в том числе дезинфицирующих средств, создает избирательное давление, которое приводит к появлению устойчивых клеток бактерий. Это давление оказывается как на комменсальные, так и на патогенные бактерии, и благодаря вертикальному и горизонтальному переносу генов эти резистентные бактерии создают устойчивые популяции [76]. Более высокая распространённость устойчивых штаммов в данной популяции может привести к бактериальному загрязнению, к гибели людей и животных [251].

Перекрёстная устойчивость между различными АМП становится всё более серьёзной проблемой, поскольку многие исследования показывают корреляцию между устойчивостью к АМП и дезинфектантам у ряда бактерий [138]. Слабые (но значимые) корреляции обнаружены между толерантностью к хлору и МИК в отношении АМП, что свидетельствует о том, что хлор-толерантные бактерии, более вероятно, будут устойчивы к ряду АМП. Устойчивые к АМП бактерии выживали дольше, чем чувствительные к АМП организмы, когда подвергались воздействию свободного хлора в анализе времени контакта [205]. Широко используемые дезинфицирующие средства на основе бензалкония хлорида (БХ) способствуют формированию устойчивости к АМП благодаря совместной селекции [140]. Приобретённая резистентность в микробном сообществе формируется в результате воздействия дезинфицирующих средств при субингибирующих концентрациях или длительного воздействия четвертичных аммониевых соединений [58, 131].

В ЛПО предполагаются длительные периоды сушки и дезинфекции. Подобно

устойчивости к АМП, *A. baumannii* адаптировался к этим воздействиям [282]. Устойчивость к высыханию, то есть способность поддерживать жизнеспособность в сухих условиях, варьируется среди клинических изолятов *A. baumannii*, при этом ряд изолятов остаются жизнеспособными в течение почти 100 дней [35].

Эксперименты по клонированию генов использованы для обнаружения интегративных и конъюгативных элементов, кодирующих эффлюксный насос БХ в сочетании с генами устойчивости к АМП [140]. Воздействие на *P. aeruginosa* увеличивающихся концентраций БХ, ведёт к выработке толерантности к полимиксину В и другим АМП [140]. Эти исследования показывают, что результат воздействия дезинфицирующих средств может способствовать формированию устойчивости к АМП, формируя штаммы с МЛУ.

Приобретение мобильных генетических элементов является одним из механизмов устойчивости к дезинфектантам; другие механизмы включают фенотипические изменения (такие как изменение заряда клеточной мембраны), отток лекарственных препаратов, изменение антимикробной мишени, инактивация дезинфицирующего средства.

Механизмы передачи генов устойчивости к дезинфектантам остаются малоизученными, хотя некоторые механизмы описаны в литературе [25, 209]. Проведены обширные исследования конъюгации плазмид, кодирующих устойчивость к дезинфектанту у *E. coli* и стафилококков [131, 276]. Гены *qac* у стафилококков в основном переносятся плазмидами и кодируют эффлюкс-насосы. Эффлюкс-насосы представляют собой трансмембранные белки, которые могут функционировать для экспорта молекул, придающих устойчивость к различным соединениям, включая дезинфицирующие средства и АМП [256, 276].

Сами дезинфицирующие средства могут стимулировать у микроорганизмов устойчивость к АМП. Существует несколько разных путей выработки устойчивости [102, 140]. Бактерии могут развить устойчивость к дезинфицирующим средствам либо путём приобретения экзогенных мобильных

генетических элементов, либо в процессе внутренней генетической адаптации. Собственные генетические изменения, такие как мутации или дифференциальная экспрессия генов, вызванные антимикробным стрессом, могут значительно способствовать развитию устойчивости к дезинфектантам [139]. Любой микроорганизм может иметь гены устойчивости, минимально экспрессируемые, стабильно экспрессируемые, оптимально экспрессируемые при индукции [203].

В условиях стресса, таких как воздействие дезинфицирующих средств, многие гены бактерий экспрессируются неоптимально [203]. Целью неоптимальной экспрессии является возможность улучшения, основанного на изменённой экспрессии генов, что приводит к снижению восприимчивости [203]. Это изменение в экспрессии генов, наряду с множеством регуляторных мутаций, может снизить восприимчивость к АМП путём активации механизмов скрытой защиты [203]. Резистентность может быть обусловлена мутациями, которые изменяют экспрессию как нативных, так и горизонтально переносимых генов устойчивости [55]. Это гены, обуславливающие устойчивость к АМП и кодирующие, например, ферменты, разлагающие лекарственные средства (β -лактамазы), эффлюксные насосы наружных мембран (*OprR* у *P. aeruginosa*), косвенно связанные гены устойчивости, такие как мишени для лекарственных средств (*folA* у *E. coli*) или порины, которые опосредуют проникновение АМП в клетку (*ompF*) [203]. Величина устойчивости к АМП, обусловленная экспрессией генов, зависит от двух факторов: во-первых, от степени влияния генов на противомикробную активность, во-вторых, от степени неоптимальности экспрессии в условиях стресса [203]. Гены устойчивости к дезинфектантам, как и любые другие гены, способны к различным типам переноса.

Устойчивость к АМП является серьёзной проблемой здравоохранения и пищевой промышленности. При отсутствии решения её, оказание любой медицинской помощи, будь то крупная операция или незначительная процедура, может иметь потенциальную опасность и угрожать жизни [75]. В пищевой промышленности возможен коллапс, если инфекционные агенты будут больше не

восприимчивы к используемым дезинфицирующим средствам. «Пищевые вспышки» станут обычным явлением и будут угрожать продовольственной биобезопасности. Сельскохозяйственная отрасль уже находится в затруднительном положении, и уже считаются нормальными потери домашнего скота в результате бактериальных инфекций с МЛУ [33]. И это несмотря на широкое использование АМП и дезинфицирующих средств [54]. В 2001 году ВОЗ осознала серьёзность этой угрозы и выпустила документ, в котором объясняют профилактические меры по замедлению появления высокоустойчивых штаммов [58]. Задача состояла в том, чтобы расшифровать молекулярные механизмы, лежащие в основе устойчивости к дезинфектантам, и разработать новые методы для предотвращения появления бактерий с МЛУ. Ясность механизмов даёт возможность применять оптимальные решения в борьбе с устойчивостью к дезинфекции. Открытие опосредованной эффлюксным насосом устойчивости к АМП привело к разработке ингибиторов эффлюксного насоса (ИЭН) [68]. При использовании ИЭН, развитие устойчивых к АМП бактерий значительно снижалось [44]. Ингибирование оттока имело дополнительные преимущества, включая снижение устойчивости бактерий к медиаторам врождённого иммунного ответа, снижение вирулентности грамотрицательных бактерий, опосредованных образованием биоплёнок [44]. Система CRISPR-Cas, наряду с другими методами редактирования генома, использована во многих областях биомедицинских исследований и может способствовать борьбе с устойчивостью к дезинфектантам. Понимание механизмов устойчивости может быть ключом к открытию её решения. Тем не менее, любым достигнутым успехам будет угрожать горизонтальный перенос генов, который продемонстрировал способность передавать гены устойчивости между бактериями, между людьми, животными и продуктами питания.

1.2. Антибактериальные свойства металлов. Механизм взаимодействия бактериальной клетки с поверхностью металла. Опыт применения в медицине

Разработанные в прошлом столетии АМП до сих пор являются наиболее эффективными методами борьбы с бактериальными инфекциями. Их нерациональное использование в здравоохранении и промышленности привело к развитию проблемы глобальной антибиотикорезистентности. Обеззараживание загрязнённых поверхностей и стерилизация хирургических инструментов в больничной среде с применением химических дезинфицирующих средств широкого спектра действия требует затрат рабочего времени, оборудования и финансовых ресурсов, при этом эти меры подтверждены как недостаточно эффективные из-за появления штаммов бактерий с МЛУ [116]. Традиционные методы химической дезинфекции, направленные на прямое уничтожение бактерий, обернулись формированием устойчивых к дезинфектантам штаммов микроорганизмов, что представляет высокий риск для пациентов и персонала ЛПО [131, 184]. Это определило необходимость поиска новых АМП и альтернативных способов лечения и профилактики возникновения инфекций.

Бактерии в окружающей среде существуют в виде свободноживущей планктонной формы, либо в составе биоплёнки. Бактерии, попадая во внешнюю среду, обладают способностью прикрепляться к поверхностям и формировать многоклеточные структуры, известные как биоплёнки. Они представляют собой сложные микробные сообщества, обычно прикрепленные к поверхности и встроенные в трёхмерный внеклеточный матрикс, состоящий из экзополисахаридов, белков и внеклеточной ДНК. Матрикс биоплёнки защищает встроенные клетки бактерий, предотвращая проникновение АМП и иммунокомпетентных клеток хозяина [263]. Способность образовывать биоплёнку - не просто характерная особенность микроорганизмов, а доминирующий способ существования в природе. Формирование биоплёнок - процесс развития, который инициируется планктонными организмами, с

последующим формированием биоплёнки и завершается, когда клетки выходят из её структуры, чтобы вернуться обратно к одноклеточной планктонной форме существования [234]. Борьба с распространением инфекций должна быть направлена на эрадикацию планктонной формы бактерий и препятствие формирования биоплёнки. Перспективными в данном направлении могут быть поверхности, обладающие как бактерицидными свойствами, так и свойствами препятствия первичной адгезии, способствующей дальнейшему формированию биоплёнки. Такие поверхности существуют в природной среде, например, листья растений, кожа акулы, крылья насекомых, чешуя рыбы, паучий шёлк, лапы геккона. Одни из них препятствуют первичной адгезии микроорганизмов, другие же оказывают механизм контактного уничтожения [118]. Эта идея получила реализацию в изготовлении нанотекстурированных поверхностей из металлов и полимеров с комбинированным бактерицидным и антибиоплёночным действием. Бактерицидный эффект заключается в физическом растяжении клеточной мембраны при прямом контакте с поверхностью, приводящей к её разрыву, с изменением баланса между энергией деформации и энергией контактной адгезии, формированием активных форм кислорода и наступающим окислительным стрессом, ведущим к повреждению ДНК, липидов и белков бактериальной клетки [129, 158]. К дополнительным факторам, влияющим на антибактериальную активность, относятся степень гидрофобности поверхности и заряд поверхности бактериальной клетки. Бактерии обычно гидрофильны и поэтому могут легче контактировать с гидрофильными поверхностями [145]. Различия в строении клеточных стенок грамположительных и грамотрицательных бактерий могут влиять на их жёсткость. Тип связей (ковалентные или электростатические) между пептидогликаном и наружной мембраной вносит вклад в общую жёсткость клетки [14, 186]. Грамотрицательные бактерии содержат слой пептидогликана 2-3 нм, грамположительные бактерии имеют слой пептидогликана 20-80 нм, что придаёт грамположительным бактериям большую жёсткость, которая приводит к более высокому сопротивлению деформационным напряжениям, создаваемым

выступами на поверхности [248]. Размер и форма бактерий могут определять взаимодействие с нанотекстурированными поверхностями. Более крупные клетки бактерий оседают на вершинах столбов, более мелкие бактерии имеют тенденцию оседать в промежутке между двумя столбиками [159]. Фаза роста бактериальной популяции играет ключевую роль в антибактериальной активности поверхностей [262]. На степень выраженности антибактериальной активности может влиять форма и расположение наноструктур поверхности [60, 165, 269, 290, 295].

Изучая механизмы взаимодействия нанотекстурированных поверхностей с микроорганизмами, можно предположить, что они найдут широкое применение в медицине, в области биоматериалов, которые широко используются в медицинских имплантатах (стенды, трансплантаты, сердечные клапаны), стоматологии (имплантаты, восстановление и замена тканей), биосенсорах, биоэлектродах, заменителях кожи и системах доставки лекарств. Область применения биоматериалов определяется их физико-механическими свойствами: биосовместимостью, биофункциональностью, адгезивными свойствами, коррозионной стойкостью, остеокондуктивностью, коэффициентом трения и скоростью износа, токсичностью и влиянием на нормальную метаболическую активность [225, 243].

Заменяя или покрывая поверхности в медицинских учреждениях материалами со стойкими противомикробными свойствами, можно снизить микробное загрязнение и отсрочить повторное загрязнение более эффективным образом, чем с помощью периодической очистки и дезинфекции [236]. Медь широко используется для достижения этой цели [153, 236]. Особое внимание заслуживают металлические наноструктуры из-за их уникальных физических, химических и биологических применений. Металлические наночастицы широко используются в биомедицинских областях, таких как обнаружение опухолей, вопросах ангиогенеза, лечении и диагностике генетических нарушений, фотоизображении и фототермической терапии, онкологии, гипертермии, доставки лекарств, восстановлении тканей, маркировки клеток, таргетировании опухоли,

иммуноанализе, детоксикации биологических жидкостей, магнитно-резонансной томографии, магнитно-чувствительной терапии с доставкой лекарств, в качестве противомикробных агентов и способов лечения ран [37, 59, 86, 98]. Среди различных синтезированных металлических наночастиц, наночастицы меди привлекли внимание благодаря своим противораковым, антибактериальным свойствам, противогрибковой активности в дополнение к их каталитическим, оптическим и электрическим свойствам [59, 81, 149]. Супергидрофобные и супергидрофильные медные поверхности с иерархической морфологией обладают значительным антибактериальным потенциалом для снижения распространения внутрибольничных инфекций [91, 162, 261].

Магний и его сплавы обладают способностью разлагаться с течением времени при контакте с жидкостями организма (биокоррозия), что наряду с остеокондуктивными свойствами и способностью активации роста костей, делают возможность его использования как материала биоразлагаемых пористых структур. Разрушенные части биоразлагаемых пористых структур заменяются биологическими тканями через физиологические внеклеточные компоненты [291]. Такая структура не требует удаления или замены последующими операциями через несколько лет после имплантации, которые обычно являются дорогостоящими, рискованными, болезненными [161]. Микроорганизмы, находящиеся на поверхности медицинских устройств в составе зрелых биоплёнок, в 500-5000 раз менее восприимчивы к воздействию антимикробных агентов по сравнению с планктонными формами [280]. Материалы на основе магния используются для разработки сердечно-сосудистых стентов и позволяют достичь требуемых ангиографических результатов через 4 месяца за счёт полной и безопасной десорбции [32]. В этом направлении имеются работы по изучению микроструктуры, коррозионной стойкости и механических свойств магния и его сплавов [135, 169]. Установлено, что бактерицидная активность магния и его сплавов проявляется в результате повышения pH [95, 221]. Показано, что антибактериальная активность проявляется при неизменяющемся значении pH и

концентрации ионов Mg^{2+} [228]. При постоянном pH более высокая концентрация ионов магния приводит к более интенсивному бактерицидному эффекту из-за больших осмотических нагрузок, возникающих в клетках. Концентрация растворённых ионов имеет значительно большее влияние на жизнеспособность бактерий, чем время контакта, но различия исчезают, когда время воздействия увеличивается [231]. Изменение степени биокоррозии и других свойств магния достигается легированием, что приводит к ещё более широкому применению полученных сплавов в области биоматериалов, в частности, для имплантируемых устройств [274].

Алюминий и его сплавы являются широко используемыми конструкционными материалами благодаря своим превосходным свойствам, таким как высокая удельная прочность, хорошая теплопроводность и электрическая проводимость, высокая коррозионная стойкость [177]. Функциональные свойства, такие как супергидрофобность и антибактериальная активность, могут ещё больше расширить область применения этого металла в медицине и промышленности. Наночастицы оксида алюминия легко обрабатываются и легко доступны. Они обладают большой площадью поверхности, высокой механической прочностью, исключительной химической устойчивостью к высоким температурам и суровым условиям, таким как абразивная среда. Исключительные оптические свойства наночастиц оксида алюминия обуславливают их использование в качестве модели для исследования свойств, структурных и электронных вариаций других наноматериалов [119]. Биоинертность и лёгкая функционализация поверхности позволяют использовать их в биологической среде [222]. Они легко синтезируются с использованием различных методов простыми и экономичными способами [222]. Основные области применения - доставка лекарственных веществ, обнаружение различных молекул (биосенсинг), самостоятельные адъюванты в онкологии, доставка терапевтических агентов, антибактериальный агент, противоастматический и тромболитический терапевтический агент, использование в процессах бимолекулярной консервации, стабилизации,

иммунотерапии [119].

В настоящее время биологическое загрязнение и формирование биоплёнок являются основным источником ИСМП, загрязнения систем очистки воды, хирургического оборудования, упаковки и хранения пищевых продуктов, морского и промышленного оборудования [34, 97, 157, 167, 168, 272]. Как промышленный материал, нержавеющая сталь обладает превосходными механическими и химическими свойствами, используется для изготовления хирургических инструментов, операционных столов, имплантируемых устройств, в сфере биобезопасности продуктов питания [57, 29, 198, 296]. Контаминация поверхностей с последующей бактериальной адгезией, формированием биоплёнок и колонизацией способствует биокоррозионным процессам, нарушению биобезопасности продуктов питания, гнойно-септическим осложнениям в хирургии, что приводит к угрозе жизни и здоровью и требует значительных финансовых затрат на её устранение. В последнее время способы создания антибактериальных поверхностей для предотвращения адгезии бактерий и последующего образования биоплёнок постепенно привлекают внимание и усилия многих исследователей. В проведённых исследованиях супергидрофобные поверхности изготавливали путём осаждения гидрофобных полимеров на нержавеющую сталь с контролируемыми топографическими особенностями. Работы с такими образцами показали, что химический состав поверхностей сам по себе не ответственен за снижение адгезии патогенных бактерий. Антибиоадгезивные и антибиоплёночные свойства зависят от топографических характеристик поверхности и связаны с низкой адгезией воды к поверхности [57]. Благодаря оптимизированным параметрам лазерной обработки созданы нанотекстурированные поверхности, обладающие супергидрофобностью на воздухе и супераэрофильностью под водой, которые могут противостоять адгезии *E. coli* на 99% и *S. aureus* - на 93% в экспериментах с осцилляцией и почти 99% в стационарном состоянии. Изготовленная лазерным текстурированием супергидрофобная поверхность демонстрирует превосходные антикоррозионные

свойства, устойчивость к повреждениям и высокие антиадгезивные свойства при многократном контакте с микробной суспензией [204].

Результаты, полученные отечественными и зарубежными исследователями в этой области, подчеркивают необходимость разработки эффективных и недорогих методов формирования определённой топографии поверхности для создания антибиоадгезивных поверхностей.

1.3. Бактериофаги

В настоящее время мы сталкиваемся с резким повышением уровня резистентности бактерий к обычной антибиотикотерапии с реальной опасностью вступления в новую «доантибиотическую эру». По данным Всемирного альянса против устойчивости к антибиотикам (WAAR) АМП находятся на грани полной потери своей эффективности, главным образом из-за комбинации самолечения, нерационального назначения АМП и чрезмерного их использования. Эти факторы приводят к появлению полирезистентных штаммов бактерий, даже таких, которые устойчивы ко всем доступным в настоящее время АМП [147, 226]. Увеличение использования АМП, частично, связано с ростом числа людей, нуждающихся в медицинской помощи, в результате старения населения с сопутствующим ростом числа хронических заболеваний и ИСМП [90]. Злоупотребление АМП у людей приводит к отбору устойчивых штаммов бактерий, что способствует распространению генов устойчивости в окружающей среде [196]. Чрезмерное использование АМП в терапевтических, профилактических целях или в качестве стимулирующих добавок у сельскохозяйственных животных и птицы дополнительно является толчком к появлению и отбору патогенных и/или комменсальных бактерий, устойчивых к АМП [26]. Субтерапевтические дозы вызывают фенотипические изменения у микроорганизмов, способствующие возникновению бактериальной резистентности [267]. По оценкам учёных кризис антибиотикорезистентности к 2050 году приведёт к 10 миллионам смертей в год, что соответственно приведёт к значительному увеличению смертности и ущербу для мировой экономики на сумму более 100 триллионов долларов США [43]. Эти

факты демонстрируют необходимость разработки эффективных и жизнеспособных альтернатив существующей химической антибиотикотерапии, которые должны быть направлены на защиту и содействие общественному здоровью в масштабах всей планеты [74, 199, 226, 285].

Такой альтернативой могут выступать бактериофаги. Бактериофаги - вирусы, которые обладают специфической активностью в отношении бактериальных клеток и при взаимодействии с ними реплицируются и приводят к их лизису (литические бактериофаги) либо интегрируют в их геном с образованием лизогенов (умеренные бактериофаги) [6, 14]. Литические бактериофаги представляют собой природные антимикробные средства, которые могут служить жизнеспособной альтернативой традиционной антимикробной химиотерапии [74, 105, 214]. Одним из основных преимуществ использования бактериофагов является их огромное количество и разнообразие. Даже без использования генной инженерии, природа представляет собой практически безграничный источник новых вариантов фагов. Фаги являются наиболее распространёнными биологическими объектами на Земле и насчитывают около 10^{31} частиц [89]. Бактериофаги развиваются с головокружительной скоростью и, как следствие, очень разнообразны. Есть свидетельства того, что бактериофаги опережают своих хозяев в коэволюционной гонке и, находясь в постоянных биотических взаимодействиях, играют одну из ключевых ролей в формировании естественных микробных сообществ [240]. Существуют обширные коллекции фагов в различных исследовательских центрах по всему миру, что упрощает их использование. Такие свойства препаратов бактериофагов как специфичность, высокая биодоступность, возможность применения в качестве профилактических средств, способность к саморегуляции в очаге инфекции, минимальный риск возникновения устойчивости, отсутствие влияния на ферментные системы человека, совместимость с другими препаратами при лечении бактериальных инфекций являются преимуществами в сравнении с традиционными АМП, что способствует их широкому и успешному применению в последние десятилетия в

лечение бактериальных инфекций [105, 147].

История применения бактериофагов насчитывает более ста лет, первые научные упоминания о них датируются концом 19 века. В Советском союзе под руководством Г.Г. Элиавы при участии родоначальника фаготерапии Ф. д'Эрелля были созданы центры по исследованию и производству лечебных бактериофаговых препаратов на базе институтов в Тбилиси, Харькове, Киеве. С тех пор научный и практический интерес к фаготерапии в СССР, а позднее в России и других странах, ранее входивших в состав СССР, только возрастал. Это дало огромный пласт знаний и опыта в применении бактериофагов в качестве лечебных, профилактических средств борьбы с бактериальными инфекциями [5]. Несмотря на огромный потенциал бактериофагов в борьбе с инфекциями, вызванными устойчивыми к АМП штаммами бактерий, органами здравоохранения США и Европы (US Food and Drug Administration (FDA) и European Medicines Agency (EMA)) разрешено лишь ограниченное количество клинических испытаний. Вопросы, связанные с терапевтическим использованием бактериофагов и регистрацией препаратов и продуктов на их основе, широко обсуждаются в обзорах последних лет [27, 78, 220].

Важной проблемой в сфере здравоохранения является наличие бактериальных биоплёнок на поверхностях объектов внешней среды в медицинских учреждениях [13, 109, 156]. Общеизвестно, что большинство видов бактерий живут в сообществах и процветают в сложных биоструктурах, называемых биоплёнками. Биоплёнки состоят из внеклеточных полимерных материалов (матрикса), окружающих бактериальные клетки, и они напрямую связаны с возникновением таких заболеваний, как вагиноз, муковисцидоз, кариес зубов, при передаче девайс-ассоциированных инфекций кровотока и мочевыводящих путей. Биоплёнки позволяют бактериям противостоять враждебным для них условиям окружающей среды, таким, как голодание и высыхание, что делает их способными вызывать широкий спектр хронических заболеваний. Они считаются основной причиной постоянных внутрибольничных инфекций у

иммунокомпрометированных пациентов [13]. Около 50% всех внутрибольничных инфекций возникают у пациентов с инвазивными устройствами, такими как катетеры, кардиостимуляторы, эндопротезы суставов, протезы клапанов сердца [286]. Эти инородные тела являются подходящей поверхностью для адгезии бактерий. В присутствии имплантатов наблюдается значительное увеличение образования биоплёнки [233]. Во многих случаях использование АМП, таких как имипенем, колистин и ряд других, может уменьшить объём биоплёнки, но не уничтожить её полностью. Из-за токсичности и побочных эффектов этих АМП невозможно достичь МИК АМП *in vivo*. Более высокие значения МПК и МБК для сесильных клеток биоплёнки сделали антибиотикотерапию менее адекватной [286]. Биопленки защищают бактерии от иммунной системы хозяина посредством нарушения активации фагоцитов и системы комплемента, повышают их устойчивость к АМП примерно в 1000 раз [286].

Планктонные формы бактерий экспрессируют различные фенотипы по сравнению со сесильными клетками. Изучение этих различий имеет первостепенное значение для лучшего понимания того, почему бактерии в биоплёнках более патогенны, чем планктонные клетки. Поскольку бактериальные биоплёнки представляют серьёзную угрозу для здоровья, разрабатываются инновационные антимикробные подходы с использованием бактериофагов, фрагментов бактериофагов или их модифицированных частиц [123, 237]. Ведутся разработки по получению и синтезу эндолизинов - ферментов бактериофагов, участвующих в лизисе бактериальных клеток во время репликации бактериофага [230, 237].

Препараты на основе бактериофагов нашли широкое применение в пищевой промышленности. Контроль численности УПМ и патогенных микроорганизмов в пищевых продуктах на основе бактериофагов представляет экономически жизнеспособную область биоконтроля [121]. За рубежом существует ряд препаратов, которые успешно применяются в пищевой промышленности для биоконтроля за бактериями рода *Salmonella*, *Escherichia coli* O₁₅₇:H₇ и *Listeria*

monocytogenes [121, 230]. Также для снижения риска попадания патогенов в пищевую цепь бактериофаги эффективно используются в сельском хозяйстве при обеззараживании домашнего скота. Индикация бактерий и фаг-опосредованный биоконтроль успешно применяется в борьбе против многих патогенных микроорганизмов на производстве продуктов питания [112, 121, 249]. Исследования биологии бактериофагов, их продуктов и их биотехнологическое применение могут повысить биобезопасность в пищевой промышленности и урожайность сельскохозяйственных культур, а также решить проблему биоконсервации химическими консервантами, обусловленную вопросами их безопасности и токсичности [112, 130, 249]. Вспышки пищевых инфекций, вызванных микроорганизмами с МЛУ, приводят к поиску новых методов биоконсервирования пищевых продуктов [249].

Исследование бактериофагов открывает возможность разработки новых продуктов современной биотехнологии: наноклетки для доставки генов, биоконсервирование и биобезопасность пищевых продуктов, биоконтроль патогенов растений, фаговый дисплей, устройства бактериологического биосенсинга, вакцины и носители вакцин, борьба с биоплёнками и контроль роста бактерий, дезинфекция поверхности, препятствие биокоррозии, вопросы структурной и функциональной стабилизации. Остановимся на некоторых из них. Фаговый дисплей — это метод исследования белок-белок, белок-пептид и белок-ДНК взаимодействий, использующий бактериофаги для связывания белков с генетической информацией, которая их кодирует. Это современная технология производства, идентификации и создания пептидов и белковых доменов, в том числе полностью человеческих антител [20, 28]. В 1985 году *George P. Smith* разработал метод, с помощью которого исследователи могли изучать взаимодействия миллиардов различных пептидов с их специфическими лигандами. Эксперименты *George P. Smith* показали, что популяции фагов значительной представительности (до 10^{11} вариантов) можно отбирать при помощи рекомбинантной ДНК, в которой каждый фаг презентрует на своей

поверхности отдельный пептид, а объединение пептида и кодирующей его молекулы ДНК в одном бактериофаге позволяет осуществить более простой отбор и анализ требуемых вариантов фагов. Разработанная позднее методика аффинного обогащения («биоэ́ннинга») позволила отбирать из библиотеки бактериофаги, экспонирующие последовательности к целевым лигандам [114]. *George P. Smith* и *Gregory P. Winter* «за фаговый дисплей пептидов и антител» получили Нобелевскую премию по химии в 2018 году.

Следующее интересное применение бактериофагов - использование их, как перевозчиков вакцин. Разработано два подхода к доставке антигена с помощью бактериофагов - вакцины с фаговым дисплеем и вакцины с фаговой ДНК [27, 230]. Вакцины с фаговым дисплеем направлены на получение иммуногенных частиц бактериофага, на поверхности которых презентуются чужеродные антигены, в свою очередь бактериофаг в вакцинах с фаговой ДНК действует как пассивный переносчик чужеродной ДНК в эукариотические клетки. На практике эти подходы комбинируются для получения частиц бактериофага, несущих ген чужеродного антигена и отображающих на своей поверхности белок или пептид [27, 103].

Строение или система упаковки ДНК бактериофагов представляет особый интерес, как особый тип нано-транспорта для доставки генов [40, 112, 134]. За счет того что оболочка бактериофага защищает ДНК от деградации после введения, а способность представлять чужеродные молекулы на фаговой оболочке позволяет нацеливаться на специфические типы клеток, бактериофаги можно использовать в качестве наноносителей для таргетной доставки терапевтических препаратов и генетических последовательностей, представляя собой новый инструмент бионанотехнологии в системах доставки лекарств [106, 121, 134]. Оформление поверхности вирусных частиц целевыми лигандами обеспечивает универсальность и высокую специфичность.

Стандартные методы определения патогенов в пищевых продуктах обладают рядом недостатков, таких как длительное время, необходимое для

предварительного обогащения и последующего культивирования в питательных средах [152], а также невозможности выявления жизнеспособных, но некультивируемых и персистирующих форм бактерий [19]. Масс-спектрометрия позволяет сократить время культурального исследования, но при этом значительно увеличивается его стоимость. Иммуноферментный анализ простой и быстрый в использовании, но при этом имеет низкую чувствительность. Молекулярно-генетические методы исследования используются в качестве более быстрого метода для обнаружения патогенов в пище, однако они не эффективны для анализа большого объема образца без предварительного обогащения и также имеют высокую стоимость, что ограничивает их рутинное использование [31]. Одним из перспективных направлений современной биотехнологии является биосенсинг (биологическое распознавание) на основе бактериофагов, преимуществами которого являются чувствительность, точность и надежность, что позволяет свести к минимуму ограничения обычных методов обнаружения патогенов. В биосенсорах на основе фагов бактериофаг прикрепляется к поверхности сенсора, что позволяет ему обнаруживать патоген в образце [61]. Выделяют оптические (поверхностного плазмонного резонанса, биолюминесценции и флуоресцентного биоанализа) и электрохимические (амперометрические и электрохимической импедансной спектроскопии) биосенсоры на основе бактериофагов. Они успешно используются для прямой диагностики патогенов в пищевых продуктах, молоке и воде [31]. Быстрая детекция патогенов (менее 24 часов) необходима как в пищевой промышленности, так и в медицинских учреждениях для предупреждения возникновения вспышек и распространения инфекции.

Другое потенциальное использование привязывания бактериофагов - контролируемое ковалентное прикрепление биоактивных вирусных частиц в медицинских устройствах, позволяет им быть устойчивыми к развитию биоплёнок [82, 123]. Инкорпорирование частиц бактериофага в медицинские изделия для обеспечения антибактериального эффекта будет иметь

первостепенное значение в медицинских учреждениях и использоваться с целью профилактики ИСМП. При использовании таких биоматериалов можно достичь снижения возникновения девайс-ассоциированных инфекций в медицинской практике. Другим примером может служить перевязочный материал и искусственная кожа с инкорпорированными бактериофагами, которые позволят производить биоразлагаемые и биосовместимые плёнки и высокопористые криогели, предназначенные для лечения и восстановления повреждений кожи, в частности ожогов и язв, где существует высокий риск инфекционных осложнений.

Растущее число нанотехнологических приложений подталкивает многих исследователей к использованию бактериофагов в качестве векторов или матриц для новых наноустройств, широко применяемых в наномедицине [92, 134, 223, 227, 241]. Новой ветвью применения нанотехнологии в системах доставки лекарственных средств являются нитевидные MS2 -, лямбда- и T-бактериофаги, которые могут использоваться в качестве наноносителей для целевой доставки терапевтических агентов и диагностических репортерных молекул [134]. Каждый тип бактериофага имеет особую форму, собственные механизмы супрамолекулярной сборки, определённое время воспроизведения и другие характеристики, которые позволяют их использовать в качестве регулируемых носителей [134]. Белковый каркас капсида бактериофага, состоящий из нескольких белковых субъединиц широко используется для декорирования поверхности молекул, и за счет этого его структура может использоваться в качестве наноклетки для целевого захвата биомолекул [134, 154].

Ещё одно применение бактериофагов - препятствие биокоррозии. Коррозия в широком смысле определяется как разрушение поверхности металла в результате его взаимодействия с окружающей средой [110]. Микробная коррозия - электрохимическая реакция, которая усиливает процесс коррозии благодаря взаимодействию металла с микробными метаболитами (сульфид, органические кислоты, неорганические кислоты, аммиак) [193]. Бактериальные метаболиты

изменяют условия окружающей среды (такие как концентрация солей, кислот, кислорода) металлических поверхностей, что приводит к протеканию процессов коррозии [193]. Микробная коррозия вызывается в основном железоокисляющими бактериями, железоредуцирующими бактериями, сульфатовосстанавливающими бактериями, кислотообразующими бактериями, грибами [193]. Биологическим методом предотвращения коррозии является использование литических бактериофагов в качестве бактерицидных агентов [292]. Формирование биоплёнок представляет серьёзную проблему в нефтепромышленных системах и приводит к закислению продуктивного пласта и биокоррозии [41]. Физическое удаление и обработка химическими биоцидами, как основные способы борьбы с биоплёнками в нефтегазовой отрасли промышленности, не всегда эффективны, поскольку неполное удаление и недостаточная диффузия химических веществ в биопленку приводят к повторному росту микроорганизмов после прекращения обработки [41]. Новый и более эффективный подход в борьбе с биопленкообразованием с использованием бактериофагов может внести значительный вклад в уменьшение ущерба, вызванного микробной коррозией за счет их способности разлагать экзополисахаридный матрикс, который является основным компонентом биоплёнок и играет важную роль в защите клеток бактерий от химических воздействий [41]. Описанный потенциал бактериофагов в борьбе с образованием бактериальных биоплёнок на медицинских устройствах, успех бактериофагов в разрушении биоплёночного матрикса и поражении бактерий позволяет использовать бактериофаги в нефтегазовой отрасли промышленности в качестве более эффективного таргетного средства борьбы с биоплёнками, чем используемые в настоящее время методы. Устранить повышенную кислотность в резервуарах для нефти, вызванную микробно-индуцированной продукцией сероводорода и других соединений серы и связанной с ней коррозией можно путём выделения специфических частиц бактериофага для бактерий-мишеней и добавления их в эффективном титре к используемой в процессе добычи воды или

в резервуары для хранения нефти [41].

Наращение частоты возникновения инфекционных осложнений, глобальная проблема антибиотикорезистентности, высокая летальность при возникновении инфекций, вызванных ESKAPE-патогенами, тяжёлое экономическое бремя для систем здравоохранения всех стран мира подводит нас к необходимости незамедлительных действий в решении проблемы ИСМП. Нерациональное использование АМП в медицинской практике и сельском хозяйстве, на фоне недостаточной эффективности современных средств дезинфекции обуславливает интерес учёных к новым средствам профилактики и лечения инфекционных осложнений. Одним из способов решения этой проблемы является комплексное использование нанотекстурированных покрытий металлов с экстремальной смачиваемостью и сорбированных на их поверхности бактериофагов как категории принципиально новых средств в борьбе с ИСМП.

РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Разработан дизайн исследований, включающий все этапы, необходимые для достижения цели и выполнения поставленных задач (Таблица 3).

Таблица 3 - Схема проведенных исследований

Задача	Объекты исследования	Материал	Культуры микроорганизмов	Дисперсионная среда	Протокол исследования	Используемые методы
1. Отработка технологии нанесения бактериальных культур и бактериофагов.	61 фильных, 55 фобных, 157 контрольных образцов.	Алюминиевый сплав AMG, медный сплав М1М, нержавеющей сталь марки 12Х18Н10Т, магниевый сплав МА8.	<i>E. coli K12 C600</i> , <i>A. baumannii B-05</i> , <i>K. pneumoniae B-811</i> , <i>P. aeruginosa B-3086</i> , <i>S. aureus 2004</i> , <i>Acinetobacter phage AM24</i> , <i>Klebsiella phage KpV811</i> , <i>Pseudomonas phage PA10</i> , <i>Staphylococcus phage SCH111</i> , <i>Escherichia phage ECD7</i>	1. Физ. раствор. 2. Водно-гексановая эмульсия. 3. Питательная среда. 4. Натрий-фосфатный буфер.	- С высушиванием капли. - С сохранением капли. - С погружением в суспензию.	1. Электронная микроскопия. 2. Культуральный метод. 3. Масс-спектрометрия. 4. Метод Грациа. 5. Исследование динамики смачиваемости.
2. Исследование биологических, физико-химических аспектов взаимодействий микроорганизмов и исследуемых образцов	15 фильных, 15 фобных, 15 контрольных образцов.	Алюминиевый сплав AMG, медный сплав М1М, магниевый сплав МА8, нержавеющей сталь марки 12Х18Н10Т	<i>E. coli K12 C600</i> , <i>A. baumannii B-05</i> , <i>A. baumannii 1053</i> , <i>K. pneumoniae B-811</i> , <i>P. aeruginosa B-3086</i> , <i>S. aureus 2004</i> , <i>Acinetobacter phage AM24</i> , <i>Klebsiella phage KpV811</i> , <i>Pseudomonas phage PA10</i> , <i>Staphylococcus phage SCH111</i> , <i>Escherichia phage ECD7</i>	1. Физ. раствор. 2. Водно-гексановая эмульсия. 3. Питательная среда.	- С высушиванием капли. - С сохранением капли. - С погружением в суспензию.	1. Электронная микроскопия. 2. Культуральный метод. 3. Масс-спектрометрия. 4. Метод Грациа. 5. Исследование динамики смачиваемости.
3. Изучение антибактериальных свойств нанотекстурированных поверхностей из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали.	224 фильных, 155 фобных, 76 контрольных образцов.	Алюминиевый сплав AMG.	<i>E. coli K12 C600</i> , <i>A. baumannii B-05</i> , <i>K. pneumoniae B-811</i> , <i>P. aeruginosa B-3086</i> , <i>S. aureus 2004</i>	1. Физ. раствор. 2. Водно-гексановая эмульсия.	- С высушиванием капли. - С сохранением капли.	1. Электронная микроскопия. 2. Культуральный метод. 3. Масс-спектрометрия. 4. Исследование динамики смачиваемости.
	95 фильных, 86 фобных, 78 контрольных образцов.	Медный сплав М1М.	<i>E. coli K12 C600</i> , <i>K. pneumoniae B-811</i>	1. Питательная среда.	- С высушиванием капли. - С сохранением капли. - С погружением в суспензию.	1. Электронная микроскопия. 2. Культуральный метод. 3. Масс-спектрометрия. 4. Исследование динамики смачиваемости.

Продолжение таблицы 3

Задача	Объекты исследования	Материал	Культуры микроорганизмов	Дисперсионная среда	Протокол исследования	Используемые методы
3. Изучение антибактериальных свойств нанотекстурированных поверхностей из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали.	38 фильных, 59 фобных, 103 контрольных образцов.	Магний-сплав МА8.	<i>E. coli K12 C600</i> , <i>K. pneumoniae B-811</i> , <i>P. aeruginosa B-3086</i>	1. Физ. раствор. 2. Водно-гексановая эмульсия. 3. Питательная среда. 4. Натрий-фосфатный буфер.	- С сохранением капли. - С погружением в суспензию.	1. Электронная микроскопия. 2. Культуральный метод. 3. Масс-спектрометрия. 4. Исследование динамики смачиваемости.
	69 фильных, 69 фобных, 71 контрольных образцов.	Нержавеющая сталь марки 12Х18Н10Т	<i>A. baumannii B-05</i>	1. Физ. раствор. 2. Водно-гексановая эмульсия. 3. Натрий-фосфатный буфер.	- С высушиванием капли. - С сохранением капли.	1. Культуральный метод. 2. Масс-спектрометрия. 4. Исследование динамики смачиваемости.
4. Анализ эффективности органо-неорганических гибридных покрытий на металлах с сорбированным и бактериофагами.	305 фильных, 109 фобных, 163 контрольных образцов.	Алюминиевый сплав AMG, медный сплав М1М.	<i>E. coli K12 C600</i> , <i>A. baumannii B-05</i> , <i>K. pneumoniae B-811</i> , <i>P. aeruginosa B-3086</i> , <i>S. aureus 2004</i> , <i>Acinetobacter phage AM24</i> , <i>Klebsiella phage KpV811</i> , <i>Pseudomonas phage PA10</i> , <i>Staphylococcus phage SCH111</i> , <i>Escherichia phage ECD7</i>	1. Физ. раствор. 2. Водно-гексановая эмульсия.	- С высушиванием капли. - С сохранением капли.	1. Электронная микроскопия. 2. Культуральный метод. 3. Метод Грациа. 4. Масс-спектрометрия. 5. Исследование динамики смачиваемости.
5. Оценка коррозионной стойкости покрытий из медного сплава М1М и магниевого сплава М8.	9 фобных, 6 контрольных образца	Медный сплав М1М.	<i>E. coli K12 C600</i>	1. Питательная среда. 2. Натрий-фосфатный буфер	- С погружением в суспензию.	1. Масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой.

ГЛАВА 2. РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСА БАКТЕРИОФАГОВ С СУПЕРГИДРОФИЛЬНЫМИ И СУПЕРГИДРОФОБНЫМИ ПОВЕРХНОСТЯМИ МЕТАЛЛОВ

2.1. Отработка технологии нанесения культур бактерий и бактериофагов на испытываемые пластины

Для исследования биологических и физико-химических аспектов взаимодействия микроорганизмов с исследуемыми образцами, оценки антибактериальных свойств и коррозионной стойкости (для определения возможности их совместного использования), прежде всего, необходимо решить задачу обеспечения физического контакта клеток бактерий, бактериофагов и исследуемых образцов, то есть отработать технику нанесения биологических агентов на испытываемые пластины. Для этой цели использованы штаммы *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086, *S. aureus* 2004, *E. coli* K12 C600, бактериофаги *Acinetobacter phage* AM24, *Klebsiella phage* KpV811, *Pseudomonas phage* PA10, *Staphylococcus phage* SCH111, *Escherichia phage* ECD7, супергидрофильные, супергидрофобные, контрольные поверхности исследуемых пластин.

Для моделирования различных путей распространения бактериальных инфекций в условиях стационара и последующей оценки антибактериальной активности поверхностей с экстремальной смываемостью использованы 3 различных протокола нанесения бактериальной суспензии на исследуемые образцы.

Первый протокол «с высыханием капли» соответствовал сухому контакту, когда каплю бактериальной суспензии высушивали на исследуемых поверхностях, затем определяли антибактериальную активность.

Второй протокол «с сохранением капли» отличался от первого условиями влажности и соответствовал влажному контакту, где капля бактериальной суспензии находилась в контакте с поверхностью без существенного испарения. Для обеспечения сохранения капли бактериальной суспензии на всех типах

поверхностей на протяжении всего эксперимента обеспечены условия 100% влажности. Для этого исследуемые образцы помещались в стерильные ёмкости (стеклянные бюксы), стенки которых выложены фильтровальной бумагой, обильно пропитанной стерильной дистиллированной водой, на поверхность пластин наслаивали капли бактериальной суспензии и плотно закрывали крышками. После определённого времени контакта проводили оценку антибактериальной активности.

Ряд металлов обладает собственной антибактериальной активностью, например, магний и медь, которые использованы в работе. Третий протокол «с погружением» позволил воспроизвести влажный контакт объёмной бактериальной суспензии с погруженным в неё исследуемым образцом и оценить антибактериальную активность текстурированных поверхностей в отношении планктонной формы бактерий, определить собственную антибактериальную активность металлов, из которых они изготовлены. Исследуемые образцы помещали в стерильные стеклянные бюксы, вносили суспензию бактерий в титре 10^7 КОЕ/мл, полностью покрывающую поверхности образцов, и плотно закрывали и оставляли при комнатной температуре. Через заданные условиями эксперимента промежутки времени выполняли подсчёт титра бактерий и определяли концентрацию ионов металлов в бактериальной суспензии.

Протоколы, используемые в работе, схематично изображены на рисунке 2.

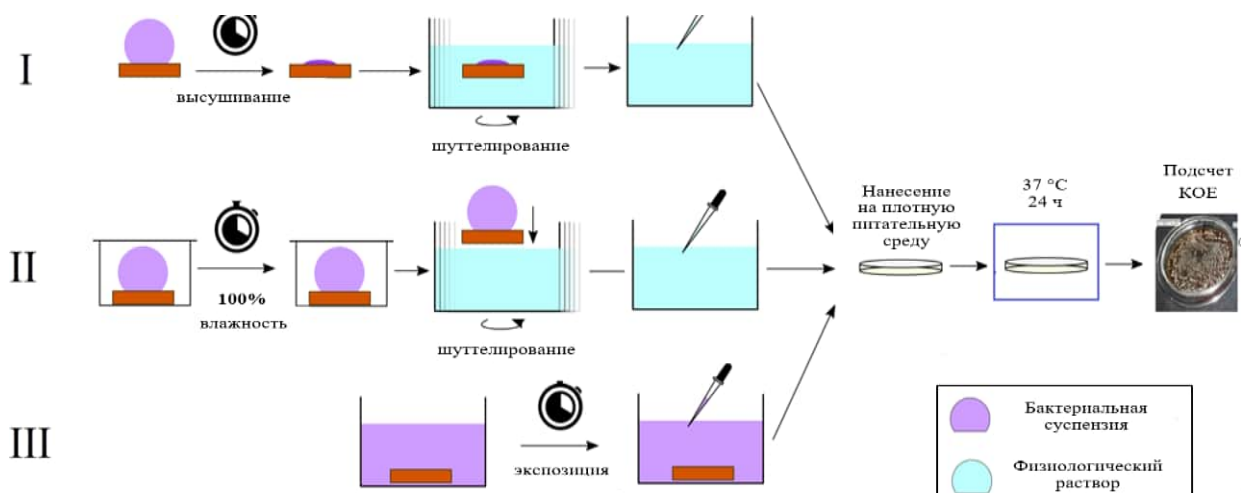


Рисунок 2 - Протоколы, используемые для исследования антибактериальной активности текстурированных поверхностей

При контакте с супергидрофильной поверхностью капля микробной суспензии моментально равномерно покрывала всю поверхность пластины. При взаимодействии капли микробной суспензии с супергидрофобной поверхностью площадь соприкосновения минимальна. Используемый в экспериментах органический растворитель н-гексан, во-первых, создавал имитацию влияния органических веществ, источником которых могут быть атмосферные загрязнители, жиры, находящиеся на поверхности кожи человека, биологические жидкости, влияющие на смачиваемость и бактерицидный эффект поверхностей; во-вторых, н-гексан нивелировал свойства отталкивания супергидрофобной поверхности и позволял сорбировать на неё бактериофаги. Термодинамическая нестабильность, приводящая к быстрому укрупнению эмульсии и полному разделению на масляную и водную фазы, является важной характеристикой гексан-водных эмульсий. Тем не менее, водная фаза после разделения насыщается гексаном и поэтому смачивает супергидрофобную поверхность лучше, чем исходный физиологический раствор. Это свойство позволяет осаждать больше фагов и бактерий на поверхности и имитирует влияние загрязнителей на смачиваемость поверхности в естественных условиях. Низкая растворимость в воде и высокая летучесть гексана приводит к быстрому самопроизвольному удалению растворителя из водной фазы. Влияние органической добавки на свойства рассматриваемой системы ограничивается стадией смачивания. Благодаря использованию органического растворителя мы смогли сорбировать бактериофаги на исследуемые поверхности перед их контаминацией бактериальной суспензией.

Гексан-водную дисперсионную среду получали шуттелированием 0,9% раствора хлорида натрия и н-гексана в соотношении 1:1 в течение 30 мин при 170 об/мин. Эту смесь использовали в экспериментах со всеми типами поверхностей, чтобы сделать более надёжными сравнение бактерицидной активности супергидрофобных, супергидрофильных и контрольных поверхностей в условиях,

близких к практическим.

Для адекватной оценки и более точного определения антибактериальной активности использованы отмытые в натрий-фосфатном буфере клетки бактерий, полученные следующим образом: 18-ти часовую культуру, выращенную в мясо-пептонном бульоне, центрифугировали в течение 5 минут при 5000 об/мин, удаляли надосадок и добавляли 1 мл PBS. Процедуру повторяли трижды. Отмытые клетки бактерий разбавляли PBS до необходимого титра. Титр определяли культуральным методом.

Для сорбции бактериофагов на исследуемые образцы брали стоковые суспензии бактериофагов и разводили в физиологическом растворе до 10^9 БОЕ/мл. Затем смешивали с гексаном в соотношении 1:1. По 100 мкл этой смеси аккуратно наслаивали на пластины и оставляли на 24 часа при комнатной температуре. Затем для проверки титра осажденных на поверхность бактериофагов в стерильные пробирки с 1 мл физиологического раствора помещали контрольные пластины. Для «отбивки» бактериофага пробирки с содержимым шуттелировали 30 минут при 170 об/мин. Затем из них отбирали по 500 мкл жидкости, содержащей бактериофаг, и производили подсчет негативных колоний по методу Грация. Остальные пластины контаминировали бактериальными штаммами бактерий, соответствующими сорбированным бактериофагам, в предварительно созданных условиях 100% влажности и оставляли при комнатной температуре. Через 1, 4 и 6 суток брали по 3 пластины, помещали в пробирки с 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида и шуттелировали при 170 об/мин 30 мин. Затем из них отбирали 0,5 мл содержимого и делали ряд десятикратных разведений в 4,5 мл 0,9% растворе натрия хлорида, отбирали по 100 мкл из каждой пробирки с разведением и вносили в чашку Петри с 1,5% МХА, растирали стерильным стеклянным шпателем, давали подсохнуть и помещали в термостат при 37° С. Из оставшегося содержимого пробирки делали такой же высев 100 мкл содержимого (нулевое разведение). Через 24 часа определяли титр бактерий. Значение антибактериальной активности

рассчитывали по формуле, приведённой ниже. Остальной объём раститровывали и определяли титр бактериофагов.

ГЛАВА 3. ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ МИКРООРГАНИЗМОВ И ИССЛЕДУЕМЫХ ОБРАЗЦОВ

Для решения этой задачи использованы супергидрофильные, супергидрофобные, контрольные образцы из алюминия, меди, магния, штаммы *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086, *S. aureus* 2004, *E. coli* K12 C600.

Морфологию и элементный состав образцов до и после контакта с бактериальными суспензиями исследовали с помощью автоэмиссионной сканирующей электронной микроскопии и энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии.

Для определения изменения титра бактерий исследуемые образцы супергидрофобных, супергидрофильных и контрольных пластин помещали в бюксы с предварительно созданными условиями 100% влажности с помощью фильтровальной бумаги, пропитанной физиологическим раствором. Затем в стерильные пробирки с 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида через 30 минут, 1, 2, 5 часов, 1, 2, 4, 6 суток помещали по 3 пластины каждого типа и шуттелировали при 250 об/мин 10 мин. Далее из них отбирали 0,5 мл содержимого и делали ряд десятикратных разведений в 0,9% растворе натрия хлорида, отбирали по 100 мкл из каждой пробирки с разведением и наносили на чашку Петри с 1,5% МХА, растирали стерильным стеклянным шпателем, давали подсохнуть и помещали в термостат при 37° С. Из оставшегося содержимого опытной пробирки делали такой же высеv (нулевое разведение). По истечении 24 час проводили идентификацию и подсчёт выросших колоний.

3.1. Морфология поверхностей образцов

3.1.1. Морфология поверхности образцов из меди

Морфология образцов из медного сплава характеризовалась наличием поверхностных гребней и канавок со средним периодом около 100 мкм (Рисунок

3а), покрытых глобулоподобными агрегатами размером 5-10 мкм, состоящими из наночастиц со средним размером около нескольких десятков нанометров (Рисунок 3b, c).

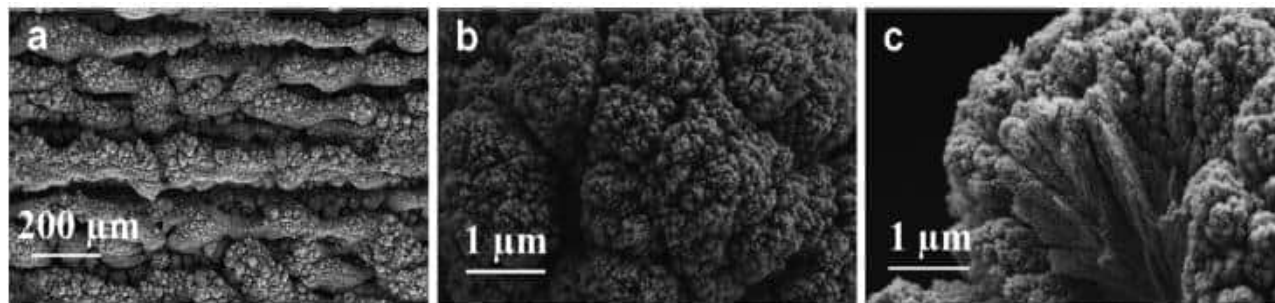


Рисунок 3 - СЭМ изображение поверхности меди с лазерной текстурой при различных увеличениях (Сканирующий электронный микроскоп Zeiss Supra 40VP (Carl Zeiss, Германия), увеличение $\times 25000$)

Примечание: а – выступы и канавки со средним периодом около 100 мкм (вид сверху), б – гребни, состоящие из глобулоподобных агрегатов наночастиц (вид сверху), с – пористая структура глобул (вид сбоку).

3.1.2. Морфология поверхности образцов из магния

Готовое супергидрофобное покрытие на магниевом сплаве МА8 характеризуется низкой поверхностной энергией и иерархической шероховатостью. Угол смачивания равен $171 \pm 1^\circ$, а угол скатывания - $3 \pm 1^\circ$. Анализ поведения показал, что покрытия демонстрируют чрезвычайно низкую деградацию супергидрофобных свойств при сохранении углов смачивания выше 170° и углов скатывания ниже 5° при постоянном контакте с деионизированной водой. На рисунке 4 а, б показана морфология супергидрофобной нанотекстурированной поверхности из магния до контакта с жидкой средой. Заметные морфологические изменения из-за высокой коррозионной активности жидкой среды появляются после погружения этого покрытия в бактериальные суспензии в PBS (Рисунок 4 с-h). На рисунке 4 г, h показано наличие микростержней. Поверхностный слой, покрывающий внутренние структуры супергидрофобной поверхности отличается от исходной поверхности и различается для образцов, контактирующих с различными бактериальными суспензиями при этом сохраняя мультимодальную текстуру поверхности. Сравнение СЭМ-изображений позволяет сделать вывод, что

свежеприготовленный образец демонстрирует плотную структуру, состоящую из микро- и наноэлементов (Рисунок 4 b), а контакт с биологическими жидкостями вызывает структурное разрыхление, либо переходящее в губчатую морфологию в случае с *K. pneumoniae* (Рисунок 4 d) либо формирующее рыхлый наноструктурированный слой в случае с *P. aeruginosa* B-3086 (Рисунок 4 f).

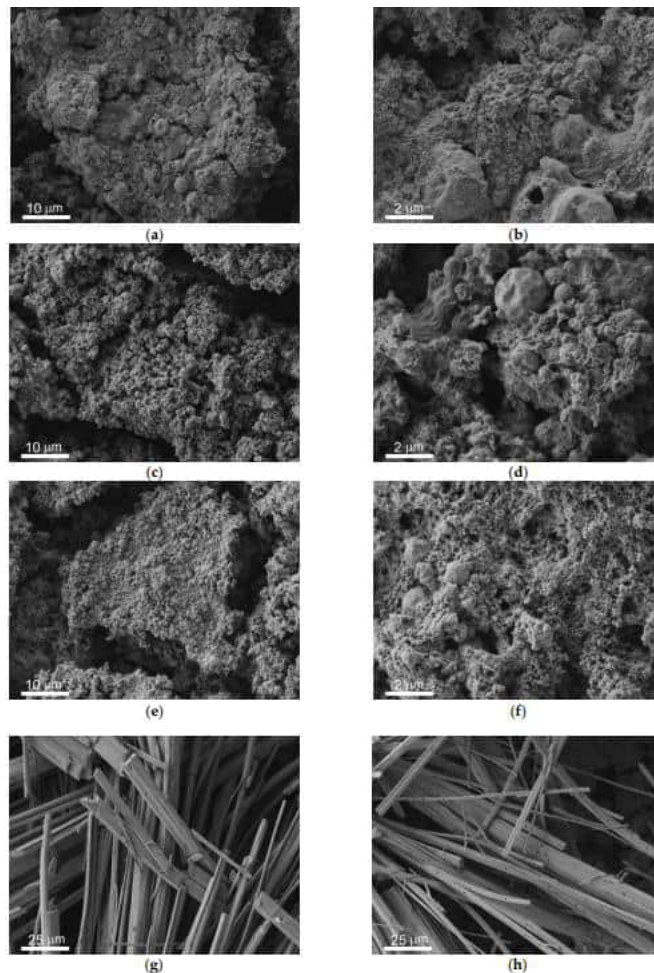


Рисунок 4 - СЭМ изображения морфологии поверхности супергидрофобного покрытия на магниевом сплаве МА8 (Микроскоп растровый электронный NVision 40 (Carl Zeiss, Германия), увеличение $\times 25000$)

Примечание: (a, b) – свежеприготовленный образец; (c, d) - образец после 48 часов погружения в бактериальную суспензию *K. pneumoniae* в PBS; (e, f) - образец после 48 часов погружения в бактериальную суспензию *P. aeruginosa* B-3086 в PBS; (g) - микростержни, образовавшиеся после 48 часов погружения в бактериальную суспензию *K. pneumoniae* B-811 в PBS; (h) - микростержни, сформированные после 48 часов погружения в бактериальную суспензию *P. aeruginosa* B-3086 в PBS

Чтобы понять механизм образования поверхностных элементов на исследуемых образцах, была изучена морфология поверхности супергидрофобных магниевых пластин после контакта с PBS без бактериальных клеток. В результате было показано, что влияние бактериальных метаболитов на

образование поверхностных элементов незначительно, чтобы быть обнаруженным экспериментально, образовывались такие же микростержни и покрывающие плёнки, а элементный состав микростержней был одинаков как для PBS, не содержащего бактерий, так и для бактериальных суспензий. Таким образом, основной механизм образования микростержней связан с химическим взаимодействием компонентов PBS с магнием.

3.2. Распределение бактерий по поверхности исследуемых образцов

3.2.1. Распределение бактерий по поверхности исследуемых образцов из меди

Анализ титра выживших бактерий как для клеток *E. coli*, так и для *K. pneumoniae* после контаминации контрольных, супергидрофильных и супергидрофобных пластин в экспериментах без сохранения капли показывает микробиологическую чистоту уже через 30 мин после высыхания бактериальных суспензий. Увеличение времени контакта бактерий с исследуемыми образцами при высыхании до 2 ч не вызывало увеличения количества выживших клеток бактерий на поверхности подложек. Эти данные свидетельствуют о том, что в условиях метода с высыханием капли все исследуемые образцы демонстрируют полную эрадикацию обоих штаммов бактерий и устойчивость или толерантность к меди не развивается.

В экспериментах с сохранением капли, когда бактериальная суспензия контактировала с исследуемой поверхностью в условиях давления насыщенного водяного пара в течение заданного времени (30 мин, 1, 2, 5 час, 1, 2, 4, 6 сут) испарение подавляется, и в процессе контакта с подложкой капля сохраняет постоянный объём. В этом эксперименте определён титр выживших бактерий, которые либо осаждались на поверхности образца, либо оставались диспергированными в неподвижной капле жидкости. Анализ титра бактерий внутри капель, нанесённых на контрольный и супергидрофильный образец, через 30 мин контакта с суспензией показал отсутствие выживших клеток *E. coli* K12 C600 на обоих типах поверхностей, значительное снижение титра *K. pneumoniae*

на контрольном образце и отсутствие живых бактерий на супергидрофильной поверхности. Отсутствие жизнеспособных бактерий сохранялось до 6 сут эксперимента. Выживаемость бактерий на супергидрофобной медной пластине заметно отличалась (Таблица 4).

Таблица 4 - Изменение титра бактерий *E. coli* K12 C600 и *K. pneumoniae* B-811 на исследуемых образцах из меди в эксперименте с сохранением капли

Время, час	<i>E. coli</i> C600			<i>K. pneumoniae</i> B-811		
	Lg ₁₀ КОЕ на контрольном образце	Lg ₁₀ КОЕ на супергидрофильном образце	Lg ₁₀ КОЕ на супергидрофобном образце	Lg ₁₀ КОЕ на контрольном образце	Lg ₁₀ КОЕ на супергидрофильном образце	Lg ₁₀ КОЕ на супергидрофобном образце
0	8,11±0,26	8,11±0,26	8,11±0,26	7±0	7±0	7±0
0,5	0	0	6,39±0,39	4,45±0,54	0	4,19±0,58
1	0	0	6,14±0,74	0	0	4,12±0,81
2	0	0	5,77±0,30	0	0	5,90±0
5	0	0	7,14±0,29	0	0	8,77±0,22
24	0	0	8,75±0,27	0	0	9,28±0,32
48	0	0	8,58±0,55	0	0	9,00±0
96	0	0	9,35±0,20	0	0	9,87±0,02
144	0	0	9,12±0,16	0	0	9,48±0

Чтобы лучше понять причину таких различий, изучена морфология клеток бактерий, осаждённых на медные подложки с различной смачиваемостью после 24 часов контакта капли суспензии и пластины (Рисунок 5).

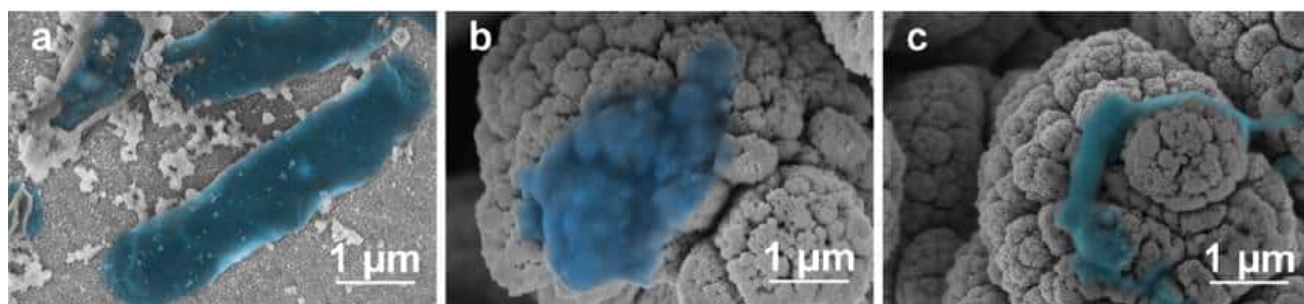


Рисунок 5 - Клетки *E. coli* K12 C600, осаждённые на контрольные (а), супергидрофильные (b), супергидрофобные (с) медные пластины после 24 часов контакта между каплей суспензии и пластины СЭМ (Сканирующий электронный микроскоп Zeiss Supra 40VP (Carl Zeiss, Германия), увеличение ×25000)

Примечание: Бактерии выделены цветом.

СЭМ показывает почти равномерное распределение бактерий по поверхности контрольного образца и поверхности супергидрофильной медной пластины.

Более тёмный фон под прилипшими клетками бактерий, указывающий на частичное высвобождение цитозоля с последующим некоторым уплотнением формы клеток *E. coli*, обнаружен с помощью СЭМ (Рисунок 5 а). Вид бактерии на супергидрофильной подложке (Рисунок 5 б) показывает, что у клетки, прикреплённой к поверхности с иерархической шероховатостью, наблюдалось

прокалывание мембраны, деформация, потеря внутриклеточной жидкости и бактериолиз. Хотя частичное разрушение структур клетки обнаружено и для супергидрофобных поверхностей, но деградация формы клеток бактерий, отложившихся на этой поверхности, меньше (Рисунок 5 с). Для супергидрофобных образцов наблюдалось очень чёткое распределение бактерий в сравнении с супергидрофильными и контрольными. Для супергидрофобного образца бактерии в основном занимают вершины гребней (Рисунок 6 а, б). Это объясняется гетерогенным режимом смачивания супергидрофобной поверхности, когда канавки захватывают воздух и не контактируют с жидкой средой.

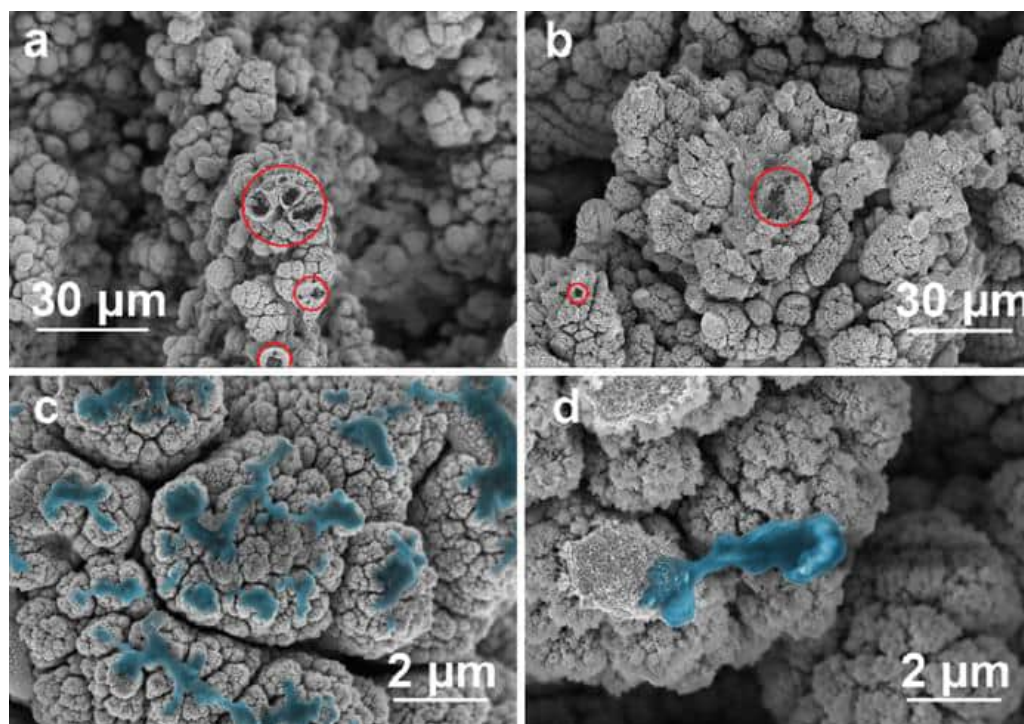


Рисунок 6 - СЭМ изображение клеток *E. coli* K12 C600 (а, с) и *K. pneumoniae* B-811 (b, d), осаждённых на текстурированные супергидрофобные медные пластины через 24 часов (а, б) и 48 часов (с, d) контакта капли суспензии с подложкой (Сканирующий электронный микроскоп Zeiss Supra 40VP (Carl Zeiss, Германия), увеличение $\times 25000$)

Примечание: Бактерии выделены цветом

Обзорные изображения (Рисунок 6 а, б) свидетельствуют о том, что бактерии оседали в основном на вершинах гребней (отмечены красным цветом). Изображения (Рисунок 6 с, d) иллюстрируют повреждение клеток на элементах нанотекстуры.

3.3. Механизм первичной адгезии

Механизм первичной адгезии бактерий на поверхности образца - один из важных процессов взаимодействия микробной клетки и исследуемой поверхности. Бактерия отделена от поверхности слоем водной фазы, её взаимодействие с поверхностью определяется различными типами поверхностных сил. Ван-дер-Ваальсовы, структурные, электростатические, стерические силы являются одними из наиболее важных для определения способности бактерий прикрепляться к поверхности [50]. При сближении бактерий с поверхностью в рассматриваемой системе во взаимодействиях бактерий с поверхностью будут преобладать электростатические и стерические компоненты поверхностных сил над Ван-дер-Ваальсовыми и структурными силами, которые эффективно экранируются или разрушаются ионами. Чтобы оценить знак эффективного взаимодействия (притяжение или отталкивание), необходимо учитывать детали состава границы раздела и заряда поверхности.

В ходе исследований были измерены ζ -потенциалы (дзета-потенциалы) бактерий и бактериофагов, используемых в работе, результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 - Дзета-потенциалы микроорганизмов, использованных в диссертационной работе

Микроорганизм	Дзета-потенциал, мВ
<i>K. pneumoniae B-811</i>	-27,0
<i>A. baumannii 1053</i>	-43,1
<i>S. aureus 2004</i>	-42,7
<i>P. aeruginosa B-3086</i>	-17,0
<i>Acinetobacter phage AM24</i>	-23,0
<i>Klebsiella phage KpV811</i>	-32,8
<i>Pseudomonas phage PA10</i>	-33,7
<i>Staphylococcus phage SCH111</i>	-24,4

Поверхностный заряд супергидрофильной поверхности оксида алюминия и

меди в нейтральных растворах положительный [143], тогда как заряд бактерий отрицательный (Таблица 5), что приводит к возможному электростатическому взаимодействию бактерий с текстурированной поверхностью. Основная физическая сила, определяющая первичную адгезию отрицательно заряженных клеток бактерий к положительно заряженным подложкам - электростатическое притяжение. Поверхностный заряд супергидрофобной поверхности оксида алюминия и меди является отрицательным [46, 172, 218, 294], что приводит к электростатическому отталкиванию отрицательно заряженных бактерий от отрицательно заряженной супергидрофобной поверхности. Стерическое взаимодействие между хорошо упорядоченным слоем фтороксисилана, хемосорбированным на супергидрофобной поверхности, и липополисахаридом бактерий способствует отталкиванию. Отрицательно заряженные бактерии имеют тенденцию отталкиваться от супергидрофобной поверхности, сохраняя слой водного раствора, отделяющий бактерии от поверхности и защищающий их от повреждения наружной мембраны. Осаждение бактерий на поверхности, управляемое поверхностными силами, сопровождается либо обратимой, либо необратимой адгезией. Для достижения последнего клетки бактерий в результате своей метаболической активности используют пили или вырабатывают поверхностные адгезины [45].

Одинаковые знаки и достаточно высокие абсолютные значения дзета-потенциалов бактерий и бактериофагов позволяют ожидать, что электростатическое отталкивание в водных средах будет доминировать над вандерваальсовым притяжением, что может исключить электрокинетический сценарий «стыковки» бактерий и бактериофагов в водных растворах.

3.4. Анализ смачиваемости поверхностей исследуемых образцов

Исследование динамики смачиваемости раскрывает возможные механизмы и особенности взаимодействия дисперсионных сред с поверхностными слоями исследуемых образцов пластин. Одной из основных характеристик этого изменения является значение краевых углов. Краевой угол смачивания образуется

на границе трёх фаз между жидкостью, твёрдым телом, газом. Величина краевого угла определяется структурой и состоянием поверхностного слоя материала толщиной в десятки нанометров. Под гидрофильными материалами, согласно современной классификации, понимают материалы, угол смачивания которых водной средой принимает значение в интервале от 0 до 90°, а у гидрофобных - от 90 до 180°. При этом супергидрофобные материалы характеризуются низкой разницей между углами смачивания при натекании и оттекании фронта жидкости (низким гистерезисом), не превышающей 1-3° и эффективным углом смачивания, большим 150°. При таких величинах, капля не удерживается на супергидрофобной поверхности и скатывается с неё даже при очень малых наклонах поверхности. Углы скатывания для супергидрофобных поверхностей для капель радиусом 1-2 мм, как правило, меньше 15° [7]. Изменение краевого угла происходит в результате любого изменения состояния поверхности из-за электрохимической реакции, связанной с процессом коррозии, который происходит на ней. Оценить применимость этой поверхности для решения конкретных практических задач позволяет определение величины макроскопического краевого угла, характеризующего поверхность исследуемого объекта в целом. Исходя из значений краевых углов, на микроскопическом уровне можно оценить химическое и физическое состояние нано- и микроскопических областей исследуемых образцов вблизи их зоны контакта с бактериальными суспензиями.

3.4.1. Изменение смачиваемости образцов из алюминия

Для решения этой задачи в исследовании использованы супергидрофильные и супергидрофобные образцы из алюминия, гексан-водные суспензии и суспензии в 0,9% растворе хлорида натрия бактериофага *Escherichia phage ECD7* в титре 10⁹ БОЕ/мл, гексан-водные суспензии и суспензии в 0,9% растворе хлорида натрия *E. coli K12C600* в титре 10⁷ КОЕ/мл.

Смачиваемость образцов предварительно оценивалась с использованием капель деионизированной воды. Полученные данные показывают, что подложки

T1Phil и T2Phil, изготовленные без осаждения фтороксисилана, показали полное растекание и впитывание воды внутрь бороздок текстур. Согласно современной классификации, эти субстраты можно считать супергидрофильными [85, 180].

Данные, представленные в таблице 6, указывают на экстремальные водоотталкивающие свойства образцов T1Phob и T2Phob как по отношению к водно-солевым растворам, так и по отношению к суспензиям органических веществ в солевых растворах.

Таблица 6 - Смачиваемость супергидрофобных поверхностей различными суспензиями, использованными в работе

Образец	Капля	Угол смачивания	Угол скатывания
T1Phob	Суспензия <i>E. coli</i> K12 C600 в физ. растворе в титре 10^7 КОЕ/мл.	172.0±0.3	1.1±0.2
	Суспензия <i>E. coli</i> K12 C600 в гексан-водной эмульсии в титре 10^7 КОЕ/мл	170.6±2.0	3.0±0.4
	Суспензия <i>Escherichia phage</i> ECD7 в физ. растворе при титре 3×10^9 БОЕ/мл.	172.3±1.0	1.0±0.3
	Суспензия <i>Escherichia phage</i> ECD7 в гексан-водной эмульсии	170.4±1.7	3.8±1.4
T2Phob	Суспензия <i>E. coli</i> K12 C600 в физ. растворе в титре 10^7 КОЕ/мл.	172.0±0.8	1.2±0.1
	Суспензия <i>E. coli</i> K12 C600 в гексан-водной эмульсии в титре 10^7 КОЕ/мл	170.3±1.1	3.5±0.9
	Суспензия <i>Escherichia phage</i> ECD7 в физ. растворе в титре 3×10^9 БОЕ/мл	171.7±0.9	1.1±0.3
	Суспензия <i>Escherichia phage</i> ECD7 в гексан-водной эмульсии	170.1±1.0	3.7±1.2

У пластин T1Phob и T2Phob углы смачивания более 170° , а углы скатывания менее $1,5^\circ$, что указывает на низкий гистерезис смачивания для обеих подложек. Комбинация очень высокого угла смачивания и малого гистерезиса с низким углом скатывания указала на установление гетерогенного режима смачивания при контакте этих подложек с водной фазой, то есть эти субстраты супергидрофобные. Отсутствие смачивания этих субстратов в отношении суспензий *E. coli* K12 C600 и бактериофага *Escherichia phage* ECD7 тестировали отдельно. Это связано с наличием гидрофобных фрагментов как в капсиде бактериофага, так и в наружной мембране и ЛПС *E. coli* K12 C600 [84]. По

результатам исследования смачиваемости обоих типов супергидрофобных поверхностей по отношению к суспензиям *E. coli* и *Escherichia phage ECD7* показано, что эти суспензии демонстрируют углы смачивания больше 170° и углы скатывания меньше 4° . Анализировали изменение краевого угла и поверхностного натяжения капли суспензии *E. coli K12 C600* в зависимости от времени контакта с субстратом, чтобы понять особенности контакта между каплей суспензии и супергидрофобным субстратом (Рисунок 7).

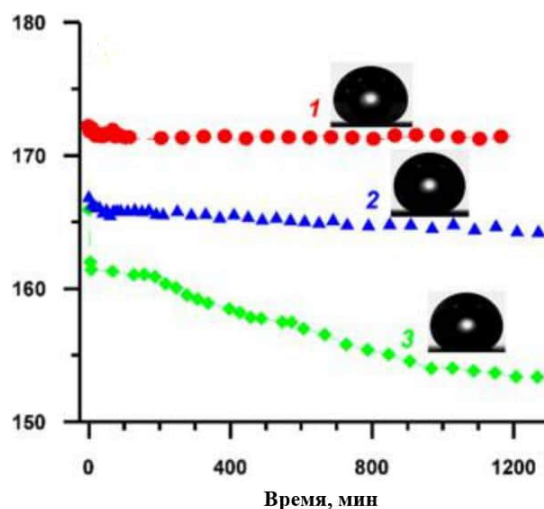


Рисунок 7 - Изменение краевого угла капли суспензии в зависимости от времени контакта с субстратом T1Phob

Примечание: 1 - для капли суспензии *E. coli K12 C600* в физиологическом растворе; 2 - для капли суспензии *E. coli K12 C600* в эмульсии гексан / физиологический раствор; 3 - для капли той же суспензии, что и (2), но на поверхности T1Phob с предварительно сорбированным бактериофагом *Escherichia phage ECD7*

Добавление к этим суспензиям гексана, имитирующего органическое загрязнение, немного уменьшило угол смачивания и увеличило угол скатывания, однако поверхности все равно оставались супергидрофобными.

3.4.2. Изменение смачиваемости покрытий медных образцов

Смачиваемость покрытий определяли путём измерения углов смачивания и скатывания. Для измерения начальных углов смачивания использована цифровая обработка видеоизображений сидящих капель. Угол скатывания лежащих капель определяли при плавном наклоне подложки до тех пор, пока капля не начинала катиться по поверхности. Как краевые углы, так и углы скатывания измеряли для капель объёмом 15 мкл, по крайней мере, в 10 различных точках поверхности каждого образца.

Контрольный образец можно отнести к гидрофильным, поскольку его угол смачивания для воды составляет $83,0 \pm 1,5^\circ$. Наличие текстурных элементов, принадлежащих к разным масштабам длины, свидетельствует о многомодальной шероховатости текстурированной поверхности и служит основой для получения как супергидрофильного, так и супергидрофобного состояний текстурированных образцов. Достижение экстремальной смачиваемости подтверждено исследованиями смачиваемости супергидрофобных и супергидрофильных образцов с использованием капель воды в качестве опытной жидкости. Полное растекание и впитывание воды внутри канавок обработанного лазером образца показало, что сразу после лазерной обработки образцы супергидрофильны. После хемосорбции фтороксисилана значительное уменьшение поверхностной энергии в сочетании с мультимодальной шероховатостью привело к установлению гетерогенного режима смачивания с краевыми углами смачивания водой более 171° и углами скатывания менее $1,1^\circ$. Чтобы оценить деградацию смачиваемости покрытий при контакте с суспензией *E. coli K12 C600* в LB бульоне с титром 10^7 КОЕ/мл, измерены углы смачивания водой на супергидрофобных и на супергидрофильных образцах через 24 часа и 6 суток контакта с бактериальной суспензией. Обнаружено, что изначально супергидрофильный образец сохранял свое супергидрофильное состояние на протяжении всего эксперимента. Супергидрофобный образец сохранял супергидрофобность после 24 часов погружения с краевым углом $170,1 \pm 1,5^\circ$ и углом скатывания $4,7 \pm 1,8^\circ$. После 6 дней контакта с бактериальной суспензией капли воды перестали скатываться с поверхности, хотя угол смачивания для капли воды оставался достаточно высоким ($150 \pm 6^\circ$). Такое ухудшение супергидрофобного состояния изготовленных покрытий можно рассматривать как указание на протекание коррозионного процесса.

3.4.3. Изменение смачиваемости образцов из магния

Для решения этой задачи в исследовании использованы супергидрофобные образцы из магниевых сплавов МА8, суспензии *K. pneumoniae B-811* в титре 10^7

КОЕ/мл в PBS.

В результате анализа смачиваемости супергидрофобного образца за 48 ч контакта с жидкой средой обнаружено, что сразу после извлечения образца из ёмкости с PBS без бактерий, смачиваемость заметно отличалась от смачиваемости образца до контакта с дисперсионной средой. Измеренные краевой угол и угол скатывания составили соответственно $163,3 \pm 1,0^\circ$ и $14,3 \pm 3,9^\circ$. Промывка струёй воды с последующей 30-минутной сушкой при температуре 180°C восстанавливала краевой угол смачивания $170,7 \pm 1,0^\circ$ и угол скатывания $3,5 \pm 2,0^\circ$ образцов, что являлось практически полным восстановлением супергидрофобного состояния.

Был проведён анализ динамики изменения краевых углов и углов скатывания супергидрофобных образцов при контакте с суспензиями бактерий для образцов, погруженных в бактериальные суспензии, а затем промытых струей воды и обработанных в течение 30 минут при температуре 180°C для обеспечения полной элиминации бактерий. После описанной процедуры измеренная смачиваемость образца показала сохранение супергидрофобного состояния для всех исследованных образцов. Значения краевых углов и углов скатывания в эксперименте с погружением исследуемых образцов в суспензию *K. pneumoniae* и на время до 48 часов показаны на рисунке 8.

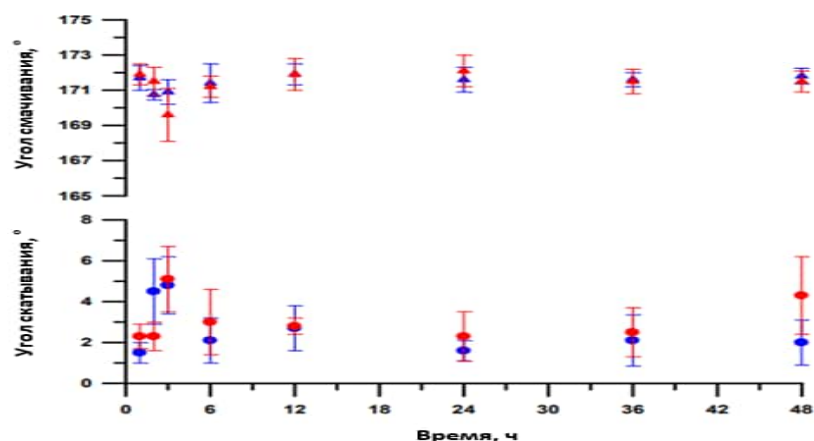


Рисунок 8 - Углы скатывания (кружки) и краевые углы (треугольники) супергидрофобных образцов до (синие символы) и после (красные символы) определенного времени контакта исследуемых образцов с суспензией *K. pneumoniae*

Примечание: для каждого времени погружения использовался отдельный свежеприготовленный образец, поэтому начальные значения (синие символы) имеют некоторый разброс

Представленные данные показывают, что деградация супергидрофобного состояния для всех образцов, если и имела место, то была незначительной.

3.5. Накопление меди в суспензии и клетками бактерий

Антибактериальная активность меди и медных сплавов, свойства супергидрофобных и супергидрофильных поверхностей из медных сплавов могут играть существенную роль в снижении распространения ИСМП.

На поверхности медных образцов присутствуют как оксиды двухвалентной меди, так и оксиды одновалентной меди, и соотношение оксидов, извлеченных из дифракционной картины, даёт для наших образцов 71% Cu_2O и 29% CuO [48]. Детальный анализ распределения оксидов меди в текстурированном слое показал, что оксид меди (Cu_2O) в основном занимает внутренний слой, а оксид меди (CuO) в основном присутствует на поверхности в виде наночастиц, сформированных на внешнем слое. Толщина пористого слоя оксида меди варьировалась от 1 до 10 мкм (Рисунок 3). Верхний функциональный слой покрытий состоит из наночастиц оксида меди, обладающих бактерицидной активностью [175]. Для супергидрофобных образцов самый верхний слой наночастиц дополнительно покрыт хемосорбированным фтороксисиланом.

Супергидрофильная поверхность пластины из меди проявляет антибактериальную активность при контакте с бактериальной суспензией, связанную с антибактериальной активностью структур её поверхности и высвобождению ионов Cu^{2+} . Как показали результаты исследований, описанных ниже, после 5 час контакта суспензии *E. coli* K12 C600 и *K. pneumoniae* B-811 с супергидрофильными образцами из меди наблюдается полная элиминация бактерий в дисперсионной среде и на поверхности исследуемых образцов. Это свидетельствует о высокой антибактериальной активности поверхностей и очевидной возможности их применения в практике, однако, две важные особенности этих поверхностей препятствуют этому. С течением времени неконтролируемое высвобождение ионов Cu^{2+} в бактериальную суспензию делает её свободной от живых бактерий, но, в то же время, цитотоксичной, а из-за

высокой поверхностной энергии, присущей супергидрофильной поверхности, её супергидрофильное состояние постепенно переходит в супергидрофобное. Этот процесс является результатом осаждения молекул поверхностно-активных веществ на поверхности, например, при прикосновении пальца. Компоненты питательных веществ, органические вещества атмосферы и продукты жизнедеятельности человека могут служить источниками поверхностно-активных веществ.

Мониторинг концентрации меди в дисперсионной среде и накопления меди бактериями важен для понимания механизмов гибели клеток *E. coli*. Анализ изменения содержания меди проводили в течение 6 дней контакта супергидрофобной медной пластины с бактериальной суспензией (Рисунок 9).

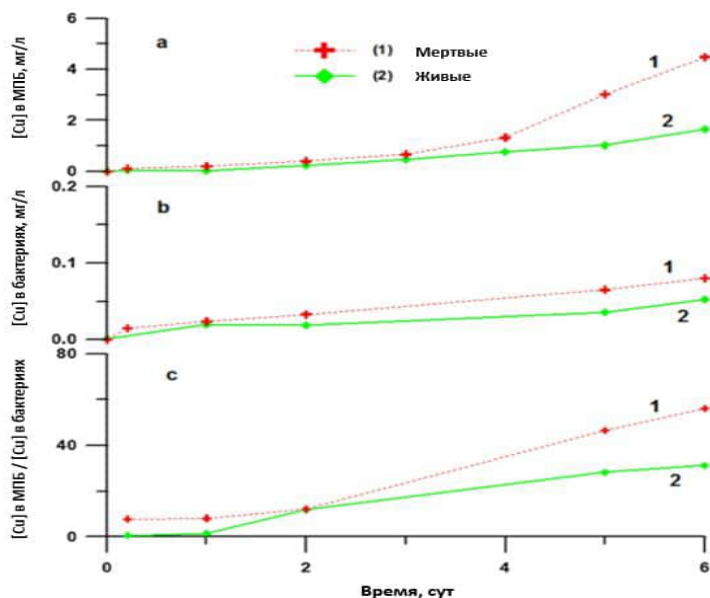


Рисунок 9 - Динамика изменения концентрации меди в МПБ (а), накопления меди клетками бактерий (b) и отношения содержания меди в МПБ к содержанию меди, захваченной бактериями (с), в зависимости от времени контакта между супергидрофобной поверхностью меди и бактериальной суспензией убитых (1) и живых (2) клеток *E. coli*

Для выяснения роли метаболизма клеток проведены эксперименты с суспензиями живых или мёртвых клеток при одном и том же исходном титре бактерий. Постепенный слабый рост концентрации ионов меди в дисперсионной среде в течение 3-4 сут контакта с супергидрофобной медной поверхностью характерен для суспензий, как с живыми, так и с мёртвыми клетками.

Хотя концентрация катионов меди в суспензии с живыми клетками

увеличилась более чем на 2 порядка с 3×10^{-3} до 0,37 мг/л в течение двух дней контакта, титр жизнеспособных бактерий постоянно увеличивался в течение указанного периода. Этот результат хорошо коррелирует с данными литературы о том, что воздействие на бактерии субтоксичных концентраций меди позволило им лучше адаптироваться и расти при высоких концентрациях меди [239, 280]. Более длительный контакт суспензии с металлом приводит к увеличению растворения меди. После 6 дней контакта концентрация меди в жидкой фазе достигала 1,66 мг/л для суспензии, содержащей живые клетки, в то время как для суспензии с мёртвыми клетками эта концентрация достигала 4,49 мг/л. Для мертвых клеток обогащение бульонной среды медью более значительно. В условиях высокой концентрации Cu^{2+} в дисперсионной среде внутриклеточная концентрация металла жёстко регулируется. Бактерии развивают защитные механизмы, позволяющие гомеостазу меди сбалансировать поглощение и накопление различных металлов и избежать поглощения абиотических элементов [64, 126, 146, 201, 216, 280].

Контроль содержания меди в живых клетках осуществляется с помощью ферментативной инактивации, эффлюксных насосов, изменения проницаемости наружной и внутренней бактериальных мембран для ионов меди, снижения восприимчивости клеточных мишеней к ионам металлов, внутри- и внеклеточной секвестрации ионов меди [64, 146, 201, 280]. Однако эти механизмы не позволяют защитить от образования активных форм кислорода и токсического действия меди при концентрациях выше некоторого критического значения. В наших экспериментах, как следует из анализа титра жизнеспособных клеток *E. coli* K12 C600, указанного ниже, критической концентрацией можно считать 0,4 мг/л (Рисунок 9 а).

Для мёртвых клеток накопление меди внутри цитозоля может быть вызвано градиентами концентрации, в то время как адсорбция или комплексообразование ионов Cu^{2+} внешней мембраной способствует общему увеличению поглощения меди клетками [108].

Исходя из данных, представленных на рисунках 9а и 9б, можно сказать, что концентрация ионов Cu^{2+} , захваченных живыми и мёртвыми клетками, указывает на постепенное увеличение содержания этого металла и достигает 0.019 и 0.033 мг/л ко 2 суткам исследования соответственно.

Данные по меди, захваченной живыми и мёртвыми клетками (Рисунок 9 а, б), указывают на постепенное увеличение содержания меди с увеличением продолжительности контакта между супергидрофобной пластиной и бактериальной суспензией на фоне увеличения концентрации катионов в дисперсионной среде. Отношение содержания меди в дисперсионной среде к содержанию меди, захваченной клетками бактерий, показанное на рисунке 9с, увеличивается со временем контакта. Накопление меди мёртвой клеткой интенсивнее, чем живой, что согласуется с работами других исследователей, где обнаружена аналогичная или более высокая сорбционная активность убитых нагреванием бактерий, по сравнению с жизнеспособными клетками [208, 259]. Чтобы получить информацию о механизме поглощения и связывания меди с клеточными структурами, сравнили дзета-потенциалы для *E. coli*, суспендированной в исходном растворе, и для клеток, контактировавших с супергидрофобной поверхностью в течение 6 дней. Дзета-потенциалы, определённые с использованием усреднённой подвижности клеток, немного различались в исходных суспензиях для жизнеспособных (-30,7 мВ) и мёртвых (-29,5 мВ) клеток. Значительная часть мёртвых клеток имела подвижность, указывающую на менее отрицательный дзета-потенциал, что согласуется с данными литературы [271].

Этот экспериментальный результат важен для объяснения более интенсивного осаждения мёртвых клеток на поверхности супергидрофобной пластины по сравнению с живыми клетками. Во время контакта суспензии с медной супергидрофобной пластиной, сопровождающегося ростом концентрации Cu^{2+} и поглощения ионов меди, дзета-потенциалы как для живых, так и для мёртвых клеток смещаются в сторону более положительных значений, достигая -26 мВ для

первых и $-19,6$ мВ для вторых после 6 дней контакта. Подобное уменьшение отрицательности дзета-потенциалов с увеличением концентрации катионов в суспензии упоминалось в литературе [271]. Такое поведение связано с образованием комплексов ион меди / наружная мембрана или адсорбцией ионов на клетку, вызванной электростатическими взаимодействиями [108, 271].

В нашем эксперименте медная подложка с супергидрофобным покрытием (SHF) погружалась в суспензию клеток *E. coli* K12 C600 в МПБ. Контролировали концентрацию живых бактерий на поверхности SHF и в суспензии в течение 6 дней. Количество живых бактерий характеризовали нормализованным титром, равным отношению фактического титра в данный момент к исходному титру в суспензии (10^7 КОЕ/мл). Для сравнения одновременно измеряли нормализованный титр суспензии с культурой, находящейся в тех же условиях, но в отсутствие металла, и он служил контролем.

Изменение количества живых клеток в ёмкости с супергидрофобным образцом и контрольной бактериальной суспензией показано на рисунке 10.

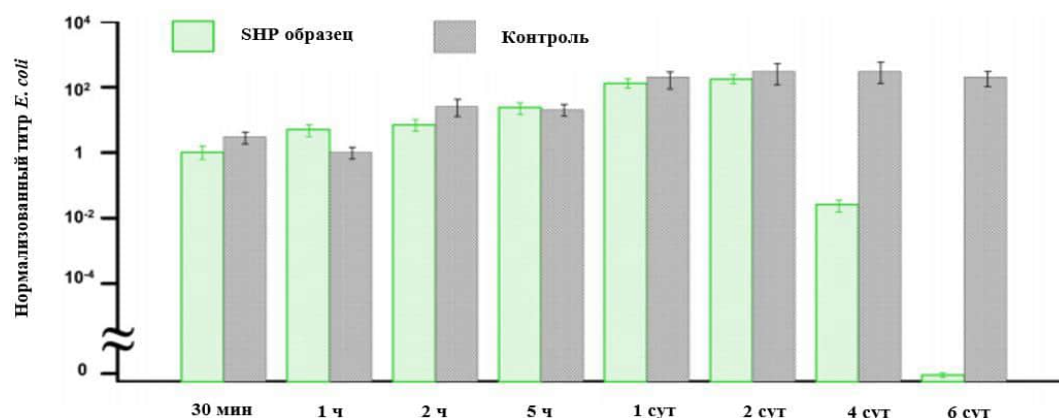


Рисунок 10 – Изменение титра *E. coli* K12 C600 в бюксе с бактериальной суспензией в зависимости от времени взаимодействия с супергидрофобной поверхностью из медного сплава
 Примечание: нормализованный титр равен отношению фактического титра в данный момент к исходному титру в суспензии (10^7 КОЕ/мл). Контрольные серые столбики представляют соответствующие изменения титра в контрольной бактериальной суспензии. Отрезки ошибок представляют собой стандартные отклонения логарифма бактериального титра

3.6. Изменение pH дисперсионной среды при контакте с супергидрофобным образцом из магния суспензий *P. aeruginosa* B-3086 и *K. pneumoniae* B-811

Коррозия металла или сплава представляет его разрушение в результате взаимодействия с окружающей средой. В основе этого взаимодействия лежат

химические и электрохимические реакции, в результате которых образуются продукты коррозии. В случае с магниевым сплавом МА8 коррозионные процессы суммарно проходят в виде следующей реакции:



которая приводит к видимому выделению газообразного водорода, диффузному помутнению и изменению рН среды в резко щелочную сторону. Последнее обуславливает в большей степени снижение титра бактерий в суспензии, контактировавшей с магниевыми пластинами в экспериментах с погружением.

Изменение рН в рассматриваемых системах можно принимать как индикатор растворения магниевых сплавов как в PBS с суспензиями *P. aeruginosa* B-3086 и *K. pneumoniae* B-811, так и в PBS, свободном от бактерий. Образцы погружались в дисперсионную среду с соотношением площади поверхности образца к объёму дисперсионной среды 0,8 см²/мл. На рисунке 11 представлены данные об изменении рН.

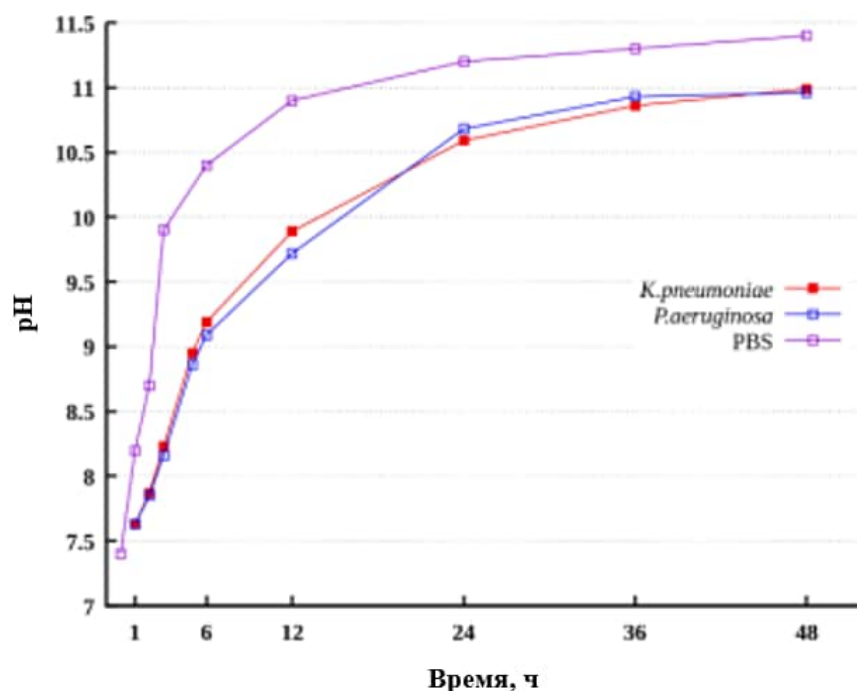


Рисунок 11 - Изменение рН среды в зависимости от продолжительности взаимодействия между и PBS с бактериями или без них и образцом с супергидрофобным покрытием из сплава МА8

Быстрое увеличение рН жидкости с 7,4 до 11,4 отмечается после погружения супергидрофобного образца на 48 час в PBS без бактерий. Подщелачивание происходит за счёт катодной реакции.

Супергидрофобное состояние магниевой поверхности обеспечивает существенную защиту от коррозии в хлоридсодержащих средах с нейтральным значением pH. Однако, значительное повышение водородного показателя вызывает разрушение химических связей в молекулах фтороксисилана, сорбированного на поверхность пластин в качестве гидрофобного агента, что приводит к образованию дефектов смачивания и десорбции гидрофобных молекул с поверхности, вызывая деградацию магниевого сплава. В результате реакции замещения гидроксид магния превращается в растворимый хлорид, что повышает pH до значений выше 10,5. В свою очередь взаимодействие компонентов дисперсионной среды (динатрийфосфат и монокалийевый фосфат) с ионами магния приводит к образованию осаждающихся на поверхность в виде пленки слаборастворимых фосфатов натрия, калия, магния и натрия (Рисунок 4).

Данные изменения pH в бактериальных суспензиях, представленные на рисунке 11, указывают на частичное подавление защелачивания дисперсионной среды в присутствии бактерий, что может быть связано с дополнительным протективным действием формирующейся на супергидрофобных поверхностях в бактериальных суспензиях в PBS покрывающей поверхностной плёнки. При этом даже в присутствии бактерий pH достигал значений 11.0.

3.7. Изменение концентрации магния в суспензиях *P. aeruginosa* B-3086 и *K. pneumoniae* B-811

Поскольку полученные концентрации Mg^{2+} имеют тот же порядок, что и типичные концентрации в клеточных жидкостях и заметно ниже, обсуждаемых в литературе как токсичные механизм уничтожения бактерий, связанный с осмотическим действием сверхвысоких концентраций магния в рассматриваемых системах, можно исключить [164, 171]. Изменение концентрации ионов магния в зависимости от времени контакта с супергидрофобным образцом показано на рисунке 12.

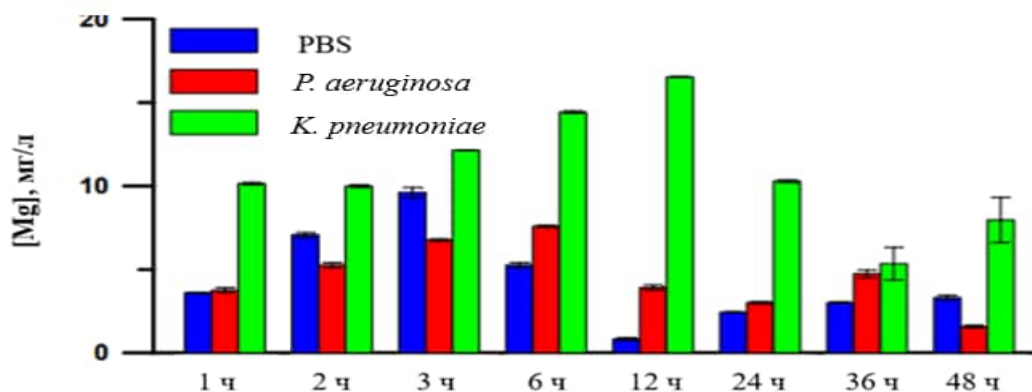


Рисунок 12 - Изменение концентрации магния в жидкой фазе в зависимости от продолжительности взаимодействия между образцом сплава МА8 с супергидрофобным покрытием и PBS с клетками *P. aeruginosa* B-3086 и *K. pneumoniae* B-811 или без них

Неравномерный рост концентрации Mg^{2+} во времени во всех трёх рассмотренных дисперсионных средах, по-видимому, определяется кинетикой образования покрывающих плёнок и формирования стержней на поверхности супергидрофобных образцов.

ГЛАВА 4. ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СУПЕРГИДРОФИЛЬНЫХ И СУПЕРГИДРОФОБНЫХ НАНОТЕКСТУРИРОВАННЫХ ПОВЕРХНОСТЕЙ МЕТАЛЛОВ

4.1. Антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных пластин из алюминиевого сплава AMG в отношении *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086, *S. aureus* 2004

Для оценки антибактериальных свойств супергидрофобных, супергидрофильных и контрольных алюминиевых пластин все поверхности контаминированы ночными культурами бактериальных штаммов *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086, *S. aureus* 2004 в титре 1×10^7 КОЕ/мл, отдельно диспергированными в эмульсии гексана/стерильного физиологического раствора. Каждая пластина была контаминирована одним видом микроорганизма. Каплю суспензии для контаминации объёмом 100 мкл отбирали из нижней части эмульсии сразу после её перемешивания и наносили на пластину.

Значение антибактериальной активности и процент редукции жизнеспособных бактерий в суспензии рассчитывали, опираясь на модифицированный международный стандарт ISO 22196:2011 [127] по формуле, приведённой ниже, и записывали как логарифм снижения:

$$R = U_t - A_t,$$

где R – антибактериальная активность,

U_t - среднее логарифмическое число жизнеспособных бактерий на контрольном образце во временной точке, заданной условиями эксперимента,

A_t - среднее логарифмическое число жизнеспособных бактерий на опытном образце во временной точке, заданной условиями эксперимента.

Согласно стандарту [127], антибактериальная поверхность является эффективной, когда антибактериальная активность (R) составляет 2,0 или более.

Снижение жизнеспособных бактерий, выраженное в процентах, переводится в логарифмическое сокращение следующим образом:

90% снижение = сокращение жизнеспособных бактерий на исследуемых образцах на 1 логарифмический порядок;

99% снижение = сокращение жизнеспособных бактерий на исследуемых образцах на 2 логарифмических порядка;

99,9% снижение = сокращение жизнеспособных бактерий на исследуемых образцах на 3 логарифмических порядка;

99,99% снижение = сокращение жизнеспособных бактерий на исследуемых образцах на 4 логарифмических порядка;

99,999% снижение = сокращение жизнеспособных бактерий на исследуемых образцах на 5 логарифмических порядков;

99,9999% снижение = сокращение жизнеспособных бактерий на исследуемых образцах на 6 логарифмических порядков.

Для определения изменения титра бактерий, исследуемые образцы супергидрофобных, супергидрофильных и контрольных пластин, контаминированные бактериями, помещали в боксы с предварительно созданными условиями 100% влажности [224]. По 3 пластины каждого типа через 1, 2, 4, 6 суток доставали и помещали в стерильные пробирки с 1 мл физиологического раствора, шуттелировали 30 минут при 170 об/мин. Далее из них отбирали 0,5 мл содержимого и делали ряд десятикратных разведений в физиологическом растворе, отбирали по 100 мкл из каждой пробирки с разведением и вносили в чашку Петри с 1,5% МХА, растирали стерильным стеклянным шпателем, давали подсохнуть и помещали в термостат и инкубировали при 37° С. Из оставшегося содержимого опытной пробирки делали такой же высев (нулевое разведение). По истечении 24 час проводили идентификацию и подсчёт выросших колоний.

Динамика интенсивности обсеменённости супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных образцов пластин микроорганизмами в экспериментах с *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086, *S. aureus* 2004 показана на рисунке 13.

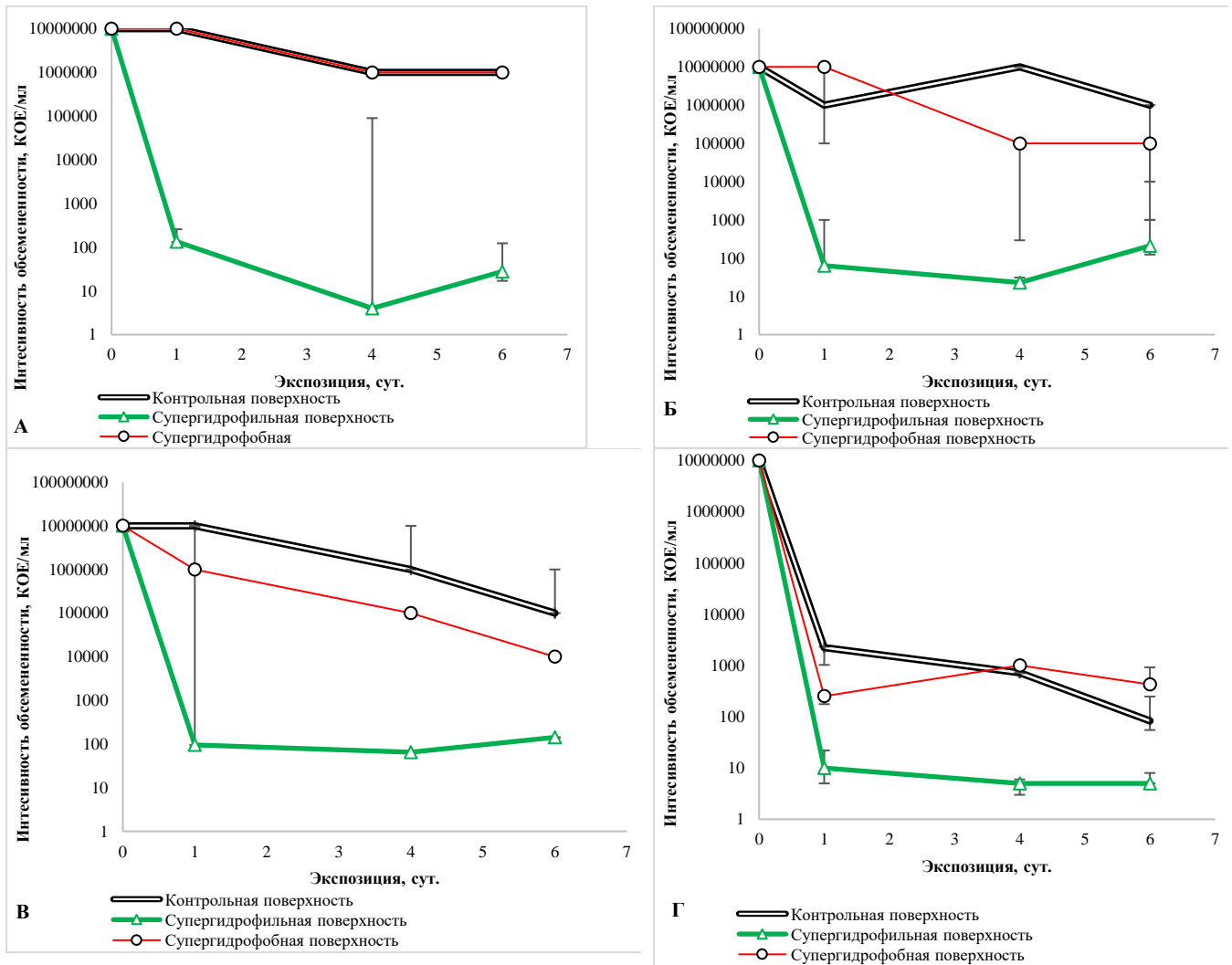


Рисунок 13 - Динамика интенсивности обсеменённости супергидрофильных и супергидрофобных пластин микроорганизмами с учётом интерквартильного размаха, КОЕ/мл в экспериментах с *A. baumannii* B-05 (А), *K. pneumoniae* B-811 (Б), *P. aeruginosa* B-3086 (В), *S. aureus* 2004 (Г)

В результате проведённых экспериментов отмечается более высокая антибактериальная активность супергидрофильных поверхностей в сравнении с супергидрофобными. Снижение микробной обсеменённости супергидрофильных подложек на 5 логарифмических порядков и эффективная антибактериальная активность, выражающаяся в 99,99% сокращении жизнеспособных клеток бактерий ($p=0,0495$), наблюдалась в опыте с *A. baumannii* B-05 уже к 1-м суткам эксперимента. При этом до 6 суток исследования количество бактерий на контрольных образцах оставалось эквивалентно количеству на супергидрофобных. В экспериментах с *P. aeruginosa* B-3086 и *K. pneumoniae* B-811 тенденция сохранялась, что отражено на рисунке 13. В эксперименте со *S.*

aureus 2004 на 1-е сутки эксперимента на всех типах пластин отмечалось падение титра бактерий, однако, тенденция более выраженного антибактериального эффекта супергидрофильных пластин по сравнению с супергидрофобными сохранялась.

Таким образом, более выраженным антибактериальным эффектом обладают супергидрофильные нанотекстурированные поверхности из алюминиевого сплава AMG, где в экспериментах с *A. baumannii B-05*, *K. pneumoniae B-811*, *P. aeruginosa B-3086*, *S. aureus 2004* она суммарно превышала антибактериальную активность супергидрофобных образцов в среднем в более чем 2600 раз.

4.2. Антибактериальная активность супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных пластин из медного сплава М1М в отношении *E. coli* и *K. pneumoniae*

Для оценки антибактериальных свойств супергидрофобных, супергидрофильных и контрольных пластин из медного сплава М1М все типы поверхностей были контаминированы 10 мкл ночных культур бактериальных штаммов *E. coli K12 C600* и *K. pneumoniae B-811* в титре 1×10^7 КОЕ/мл. Каждая пластина была контаминирована одним штаммом микроорганизма. Контаминированные образцы помещали в бюксы с фильтровальной бумагой, пропитанной физиологическим раствором, закрывали крышками и оставляли при комнатной температуре. По 3 пластины каждого типа через 30, 60, 120, 300 минут, 1, 2, 4, 6 суток помещали в индивидуальные стерильные пробирки с 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида, шуттелировали в течении 10 минут при 250 об/мин. Затем из них отбирали 0,5 мл содержимого и делали ряд десятикратных разведений в 4,5 мл физиологического раствора, отбирали по 100 мкл из каждой пробирки с разведением и вносили в чашку Петри с 1,5% МХА, растирали стерильным стеклянным шпателем, давали подсохнуть и помещали в термостат при 37° С. Из оставшегося содержимого опытной пробирки делали такой же высев 100 мкл содержимого (нулевое разведение). По истечении 24 час проводили идентификацию и подсчёт выросших колоний. Значение антибактериальной

активности рассчитывали по формуле, приведённой выше.

Медные сплавы, медь, наночастицы оксида меди проявляют антибактериальную активность, в том числе, в отношении основных возбудителей внутрибольничной инфекции [85, 175, 265, 266]. Бактерицидный эффект усиливается с увеличением содержания меди в пластине и площади контакта между образцом меди и бактериями [265]. Ожидается, что супергидрофильные подложки, подобные тем, которые изготовлены в нашем исследовании, будут очень эффективны в качестве антибактериального средства в связи с увеличенной площадью поверхности. Чем больше площадь поверхности раздела между медной подложкой и жидкой бактериальной средой, тем интенсивнее развиваются процессы коррозии. Последнее из-за высокой концентрации ионов меди в дисперсионной среде способствует уничтожению бактерий, тогда как для коррозионностойких медных пластин показано длительное выживание бактерий [91]. Токсическое действие нанотекстур, формирующих микрорельеф супергидрофильной поверхности, способствует эффективному уничтожению бактерий [178, 265].

Что касается супергидрофобных образцов, стоит отметить два важных антибактериальных механизма в дополнение к цитотоксическому действию текстуры поверхности и ионов меди, присутствующих в жидкой среде. Первый из них связан с водоотталкивающими свойствами, что резко уменьшает площадь контакта между поверхностью пластины и бактериальной суспензией [121, 261]. Второй механизм следует из значительного уменьшения силы адгезии между бактериями и супергидрофобной поверхностью, пока между ними присутствует жидкая прослойка, что показано в экспериментах по изучению антибактериальной активности супергидрофильных и супергидрофобных пластин из алюминиевого сплава AMG с сорбированными на их поверхности бактериофагами и без них в отношении *E. coli*.

В экспериментах с сохранением капли для оценки антибактериальных свойств супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных поверхностей была

проанализирована динамика интенсивности обсеменённости образцов из меди (Рисунки 14, 15).

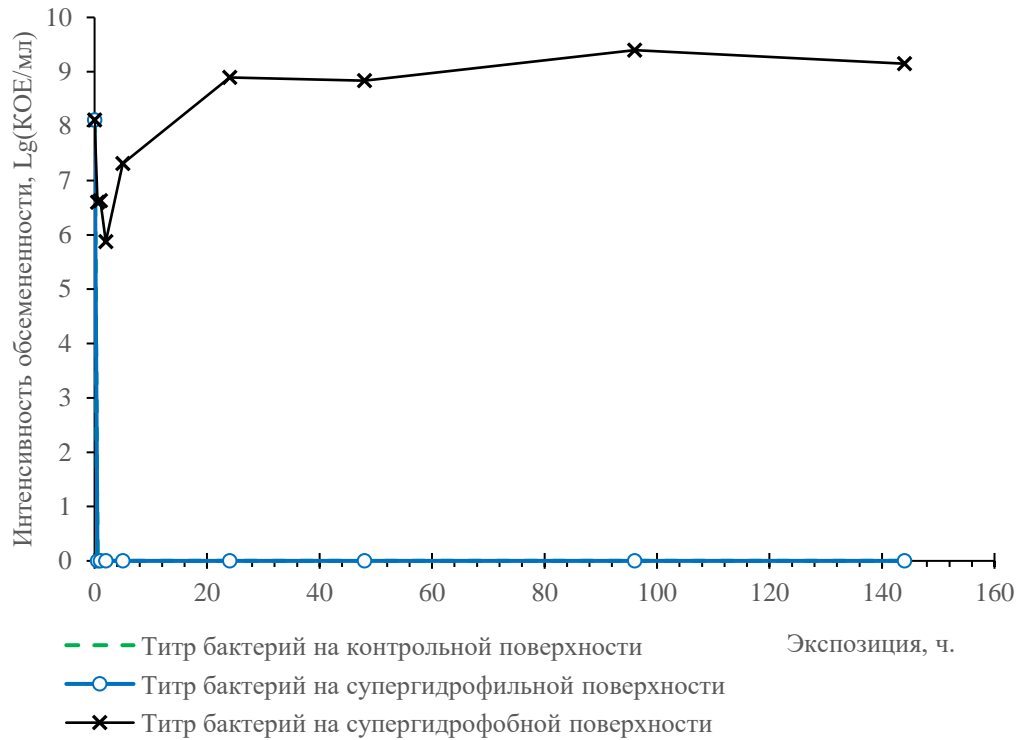


Рисунок 14 - Динамика интенсивности обсеменённости исследуемых образцов из медного сплава М1М при контакте с суспензией *E. coli* K12 C600

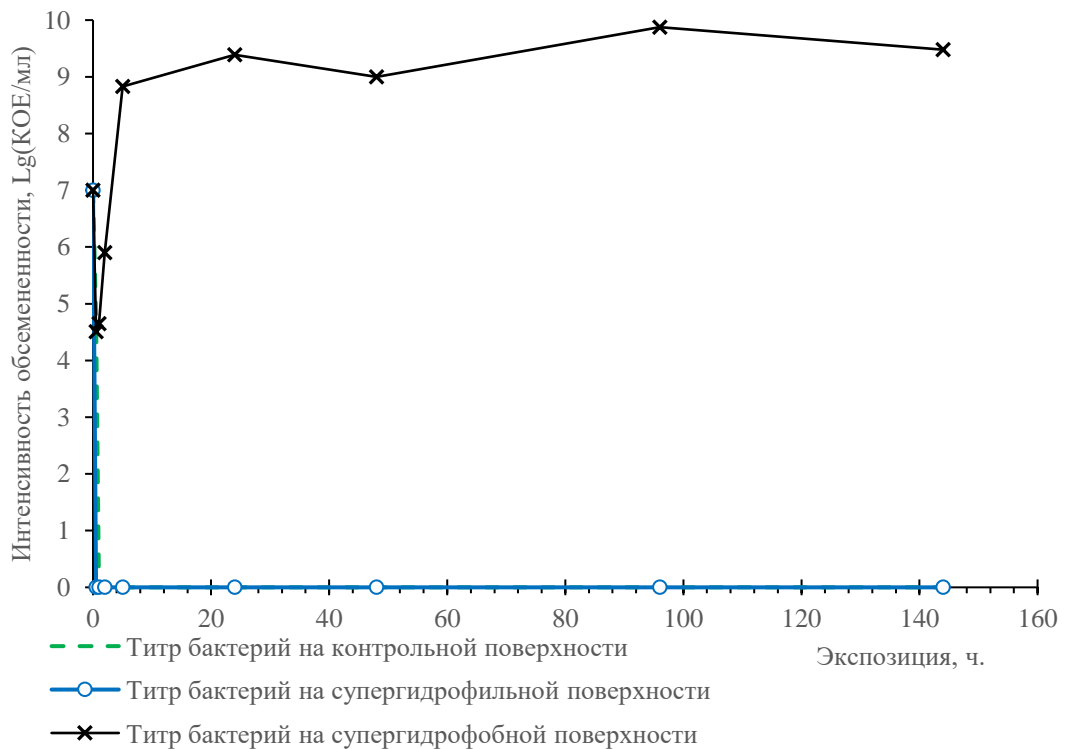


Рисунок 15 - Динамика интенсивности обсеменённости исследуемых образцов из медного сплава М1М при контакте с суспензией *K. pneumoniae* B-811

В опытах с *E. coli* K12 C600 отмечено отсутствие роста на контрольных и супергидрофильных пластинах уже во время первого измерения через 30 мин после начала эксперимента и до его завершения (Рисунок 14). В эксперименте с *K. pneumoniae* отмечено отсутствие роста на супергидрофильной пластине во время первого измерения через 30 мин, на контрольной пластине отмечено резкое падение титра жизнеспособных бактерий практически на 3 логарифмических порядка в первые 30 мин и отсутствие роста через 1 час после начала эксперимента (Рисунок 15).

Для обоих микроорганизмов взаимодействие с контрольной пластиной характеризуется изменением окраски капли бактериальной суспензии уже на первых минутах контакта. Для *E. coli* K12 C600 и *K. pneumoniae* B-811 количество выживших клеток за короткое время контакта почти на 1,5 и 2 порядка меньше соответственно, чем в исходной суспензии, что может указывать на бактерицидное действие супергидрофобного медного образца. После 5 ч контакта развивается обратная тенденция: после 5 час контакта титр *K. pneumoniae* B-811 превышает исходный, тогда как для *E. coli* K12 C600 он превышает титр, характерный для капли до её осаждения на супергидрофобную поверхность спустя 24 час. Затем наблюдалась стабилизация титра обоих штаммов бактерий. Отсутствие синей окраски капли на супергидрофобной подложке, свидетельствующее об обогащении дисперсионной среды водными комплексами ионов Cu^{2+} , позволяет сделать вывод о низкой концентрации ионов меди в суспензии и, как следствие, очень высокой стойкости супергидрофобного покрытия к воздействию коррозионных процессов и растворения меди. Совместный анализ изменения титра выживших бактерий и процессов коррозии позволяет сделать вывод о развитии толерантности диспергированных в бульоне бактерий к меди.

4.3. Антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных пластин из магниевого сплава МА8 в отношении *E. coli* K12 C600, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086

4.3.1. Антибактериальная активность в эксперименте с сохранением капли суспензии *E. coli* K12 C600

Для оценки антибактериальных свойств супергидрофобных, супергидрофильных и контрольных пластин из магниевого сплава МА8 все типы поверхностей были контаминированы 10 мкл ночной культуры бактериального штамма *E. coli* K12 C600 в титре 1×10^7 КОЕ/мл. Контаминированные образцы помещали в бюксы с фильтровальной бумагой, пропитанной физиологическим раствором, закрывали крышками и оставляли при комнатной температуре. По 3 пластины каждого типа через 15, 30 минут, 1, 2, 4, 6, 8, 24 часа доставали и помещали каждую в стерильную пробирку с 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида, шуттелировали в течении 10 минут при 250 об/мин. Затем из них отбирали 0,5 мл содержимого и делали ряд десятикратных разведений в 4,5 мл 0,9% растворе натрия хлорида, отбирали по 100 мкл из каждой пробирки с разведением и вносили в чашку Петри с 1,5% МХА, растирали стерильным стеклянным шпателем, давали подсохнуть и помещали в термостат при 37° С. Из оставшегося содержимого опытной пробирки делали такой же высев 100 мкл содержимого (нулевое разведение). По истечении 24 час проводили идентификацию и подсчёт выросших колоний. Значение антибактериальной активности рассчитывали по формуле, приведённой выше.

Можно отметить незначительное снижение титра бактерий на 1,5 логарифмических порядка на контрольной поверхности в течении первых 4 час эксперимента в сравнении с первоначальным титром, с последующим увеличением до 9 логарифмических порядков, что может свидетельствовать о незначительной антибактериальной активности самого магниевого сплава (Рисунок 16).

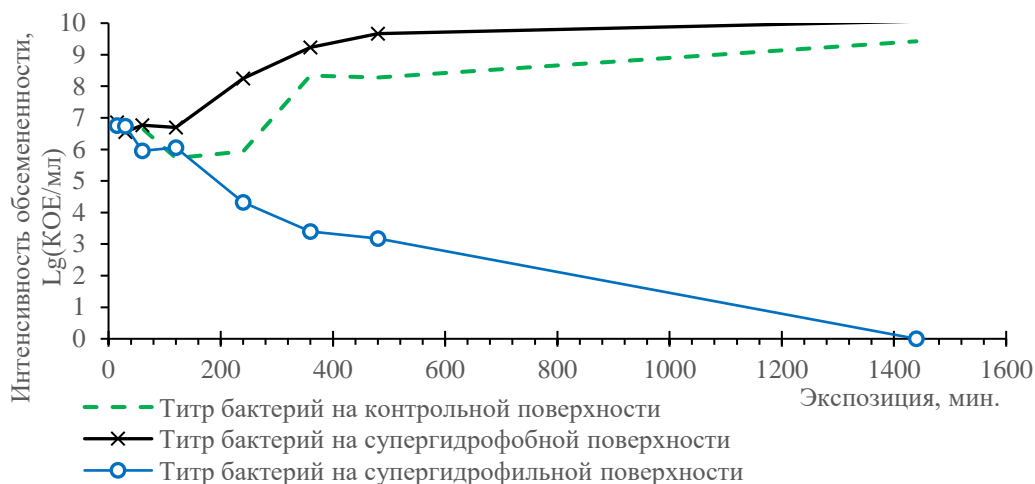


Рисунок 16 - Динамика интенсивности обсеменённости супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных поверхностей из магниевого сплава МА8 в эксперименте с сохранением капель суспензии *E. coli K12 C600*

Титр бактерий на супергидрофобной поверхности сохранялся эквивалентным первоначальному до 2 час эксперимента, затем постепенно увеличивался к 24 час эксперимента. Незначительная антибактериальная активность супергидрофильной поверхности начала проявляться с начала эксперимента и составила 0,10 к первому измерению, что выражалось в 21,40% сокращении жизнеспособных клеток, через 6 час антибактериальная активность достигла эффективных показателей, что выражалось в гибели 99,99% бактерий. К 24 час проведения опыта наблюдалась полная эрадикация бактерий на супергидрофильной поверхности.

4.3.2. Антибактериальная активность текстурированных и контрольных образцов в эксперименте с погружением в суспензию *E. coli K12 C600*, *K. pneumoniae B-811*, *P. aeruginosa B-3086*

В экспериментах использовали бактериальные штаммы *E. coli K12 C600*, *K. pneumoniae B-811* и *P. aeruginosa B-3086*. В пробирки вносили по 1 мл суточной культуры бактерий в МПБ и центрифугировали 5 минут при 5000 об/мин. Отбирали надосадок и вносили по 1 мл PBS. Так делали трижды. Затем содержимое пробирок сливали в одну емкость разбавляли PBS до 10 ЕД по ОСО. Содержимое титровали методом десятикратных разведений до 10^1 КОЕ/мл для контроля и делали посев на чашки с плотной питательной средой МХА для определения титра.

Брали 4 бюкса: первый бюкс - пустой, во второй бюкс помещали контрольную пластину из магниевых сплава МА8, в третий - супергидрофильную пластину, в четвёртый - супергидрофобную. Вносили по 14,5 мл полученной бактериальной суспензии в каждый бюкс, закрывали и оставляли при комнатной температуре и влажности. В заданные условия эксперимента время отбирали по 100 мкл из каждого бюкса и вносили в чашку с МХА, разносили шпателем и инкубировали при 37° С 24 час. Отбирали по 500 мкл из каждого бюкса и титровали методом десятикратных разведений в физиологическом растворе до 10⁷ КОЕ/мл, делали высеив 100 мкл из 6, 5, 4 разведения на МХА, разносили шпателем, инкубировали при 37° С 24 часа. Определение титра бактерий производили для *E. coli K12 C600* через 30 мин, 1, 2, 5 часов, 1, 2, 4, 6 суток, а для *K. pneumoniae B-811* и *P. aeruginosa B-3086* через 1, 2, 3, 6, 12, 24, 36, 48 часов от начала эксперимента.

Анализ научной литературы показывает, что до сих пор нет единого мнения о природе бактерицидного эффекта магниевых сплавов. Основными механизмами антибактериального действия являются: разрушению клеточной мембраны в результате действия осмотических эффектов из-за высокой концентрации ионов магния в водной среде, окружающей клетки; повышение водородного показателя в результате коррозии магния в биологических средах; образованию супероксид-ионов (O₂⁻) из-за высокой реакционной способности ионов магния при контакте с водными средами [95, 171, 250]. Также супергидрофобные материалы препятствует адгезии и вызывает повреждение клеточных мембран бактерий [95, 162, 191, 261]. Механизмы бактерицидного действия, связанные с супергидрофобным состоянием, важны, но не являются определяющими для планктонных форм бактерий. Анализ механизма, связанного с окислительным стрессом, выходит за пределы задач исследования. Изменение водородного показателя в фосфатном буфере с бактериальными суспензиями, а также влияние ионов магния в дисперсионной среде обсуждалось выше.

Динамика изменения титра *E. coli K12 C600*, *K. pneumoniae B-811*, *P. aeruginosa B-3086* в бюксах с супергидрофильной, супергидрофобной,

контрольной поверхностью из магниевого сплава МА8 в эксперименте с погружением в бактериальную суспензию представлены на рисунках 17, 18, 19.

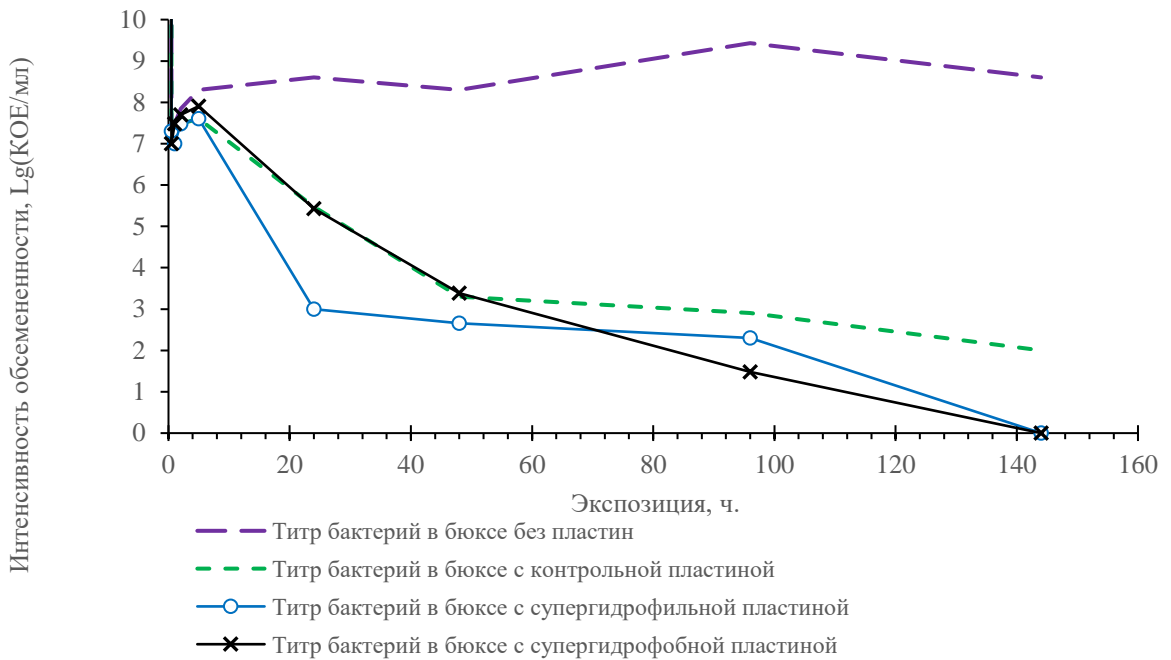


Рисунок 17 - Динамика изменения титра бактерий в бюксах с супергидрофильной, супергидрофобной, контрольной поверхностью из магниевого сплава МА8 в эксперименте с погружением в суспензию *E. coli* K12 C600

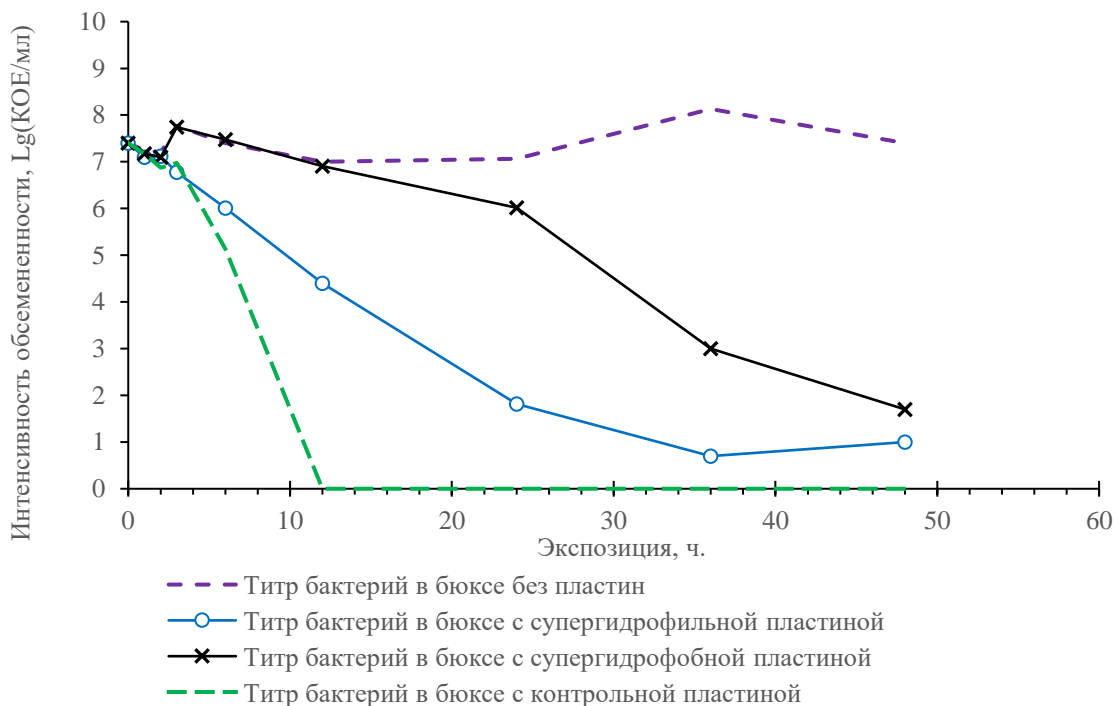


Рисунок 18 - Динамика изменения титра бактерий в бюксах с супергидрофильной, супергидрофобной, контрольной поверхностью из магниевого сплава МА8 в эксперименте с погружением в суспензию *K. pneumoniae* B-811

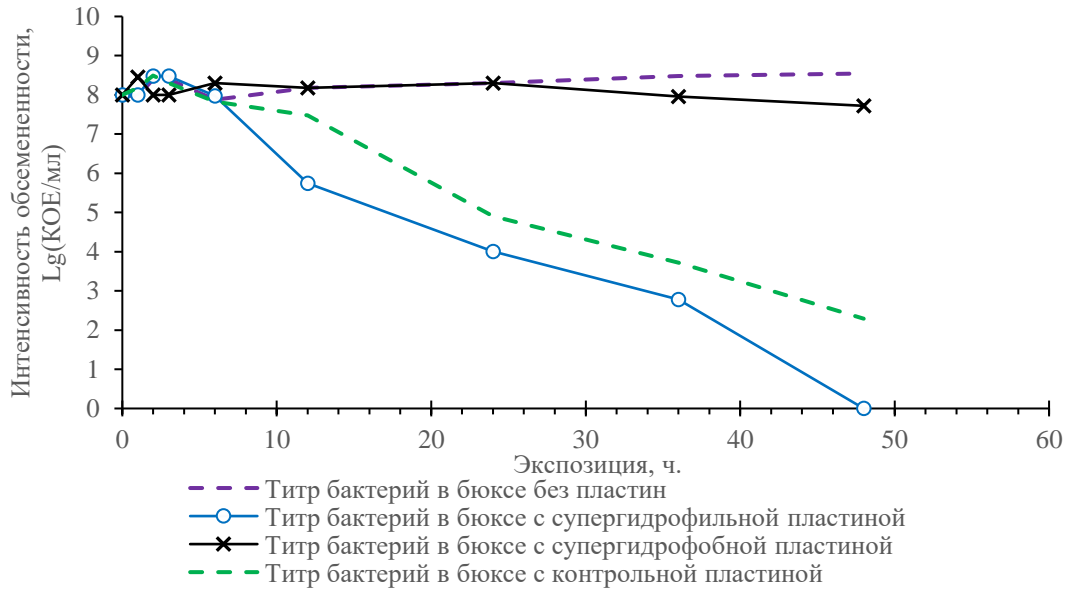


Рисунок 19 - Динамика изменения титра бактерий в бюксах с супергидрофильной, супергидрофобной, контрольной поверхностью из магниевого сплава МА8 в эксперименте с погружением в суспензию *P. aeruginosa* B-3086

Использование PBS в качестве дисперсионной среды позволило сохранить титр в бюксах без исследуемых образцов всех трёх бактериальных культур в пределах 1 логарифмического порядка на протяжении всего эксперимента, что дало возможность более точно оценить антибактериальную активность исследуемых образцов.

Стоит отметить выявленную в ходе исследования антибактериальную активность самого магниевого сплава, которая отмечалась в бюксах с контрольной пластиной и бактериями *E. coli* K12 C600 и *P. aeruginosa* B-3086 уже на 2 и 3 час измерения (0,36 и 0,09), и выражалась в 57,10% и 20,00% сокращении жизнеспособных клеток соответственно и нарастанием до эффективных показателей 99,99% к 48 часу в обоих случаях. Незначительная антибактериальная активность контрольных пластины по отношению к *K. pneumoniae* B-811 появляется с первых минут исследования и составляет 0,06 при первом измерении через 1 час со стремительным нарастанием и полной элиминацией бактерий в суспензии к 12 час опыта. Данные количественные изменения антибактериальной активности сопровождались появлением активного газообразования и возникновением «струпа» на поверхностях пластины, затем и диффузного помутнения суспензии.

Антибактериальная активность супергидрофобных и супергидрофильных пластин в эксперименте с *E. coli* K12 C600 нарастает с начала эксперимента и достигает эффективных показателей (3,17 и 5,60) и снижения жизнеспособных бактерий на 99,93% и 99,99% соответственно к 24 часу, к 6 суткам происходит полная эрадикация бактерий на обоих типах поверхностей.

В эксперименте с *K. pneumoniae* B-811 антибактериальная активность супергидрофильной поверхности нарастает с 1 часа эксперимента и достигает эффективного показателя 2,60 и 99,75% сокращения бактерий к 12 часу эксперимента. Титр бактерий на супергидрофобной поверхности начинает литически снижаться с 6 часа, антибактериальная активность достигает эффективного показателя 5,13 и 99,99% сокращения титра бактерий на супергидрофильной пластине к 36 часу от начала эксперимента.

В эксперименте с *P. aeruginosa* B-3086 антибактериальная активность супергидрофильной пластины заметно увеличивается, начиная с 6 час эксперимента, и к 12 час достигает эффективного показателя 2,43 и 99,63% сокращения бактериальной обсеменённости. Незначительная антибактериальная активность супергидрофобной поверхности появляется на 2 час эксперимента и достигает 0,82 и 85,00% сокращения бактерий к 48 часам от начала эксперимента.

Антибактериальная активность исследуемых образцов обусловлена как текстурами поверхности, так и изменением рН дисперсионной среды. Коррозионная стойкость супергидрофобного покрытия препятствовала образованию водорода из жидкой фазы и подщелачиванию суспензии, что сохраняло титр бактерий в бюксе с супергидрофобной пластиной до 24 часов эксперимента.

4.4. Антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных пластин из нержавеющей стали марки 12X18H10T в отношении *A. baumannii* B-05

Для оценки антибактериальных свойств супергидрофобных,

супергидрофильных и контрольных пластин из нержавеющей стали марки 12X18Н10Т все типы поверхностей были контаминированы 10 мкл ночной культуры бактериального штамма *A. baumannii* B-05 в титре 1×10^7 КОЕ/мл. Контаминированные образцы помещали в бюксы с фильтровальной бумагой, пропитанной физиологическим раствором, закрывали крышками и оставляли при комнатной температуре. Затем по 3 пластины каждого типа через 30 мин, 1, 2, 5 часа, 1, 2, 4 суток доставали и помещали каждую в стерильную пробирку с 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида, шуттелировали 10 минут при 250 об/мин. Далее из них отбирали 0,5 мл содержимого и делали ряд десятикратных разведений в 4,5 мл 0,9% растворе натрия хлорида, отбирали по 100 мкл из каждой пробирки с разведением и вносили в чашку Петри с 1,5% МХА, растирали стерильным стеклянным шпателем, давали подсохнуть и помещали в термостат при 37° С. Из оставшегося содержимого пробирки делали такой же высев 100 мкл содержимого (нулевое разведение). По истечении 24 час проводили идентификацию и подсчёт выросших колоний. Значение антибактериальной активности рассчитывали по формуле, приведённой выше. Динамика интенсивности обсемененности пластин из нержавеющей стали марки 12X18Н10Т бактериальным штаммом *A. baumannii* B-05 показана на рисунке 20.

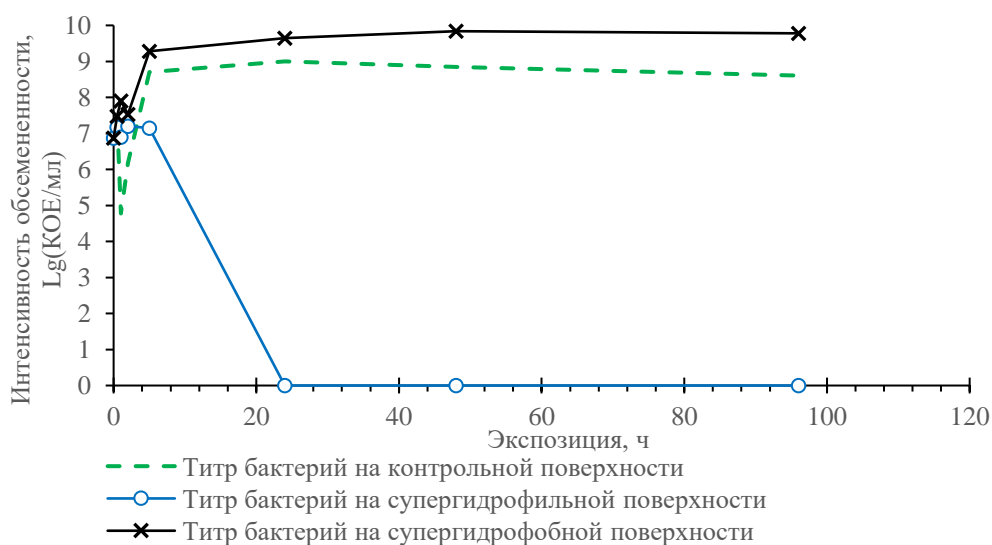


Рисунок 20 - Динамика интенсивности обсеменённости супергидрофильных, супергидрофобных и контрольных поверхностей из нержавеющей стали марки 12X18Н10Т в эксперименте с сохранением капель суспензии *A. baumannii* B-05

Супергидрофильная поверхность демонстрирует выраженную антибактериальную активность, нарастающую с 5 часа эксперимента и способствующую полной эрадикации бактерий на поверхности к 24 часу эксперимента.

Титр бактерий на контрольных и супергидрофобных поверхностях литически возрастает с начала эксперимента и до 4 суток.

ГЛАВА 5. АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ОРГАНО-НЕОРГАНИЧЕСКИХ ПОКРЫТИЙ МЕТАЛЛОВ С СОРБИРОВАННЫМИ БАКТЕРИОФАГАМИ

5.1. Антибактериальная активность исследуемых образцов из алюминия с сорбированными бактериофагами

Для оценки антибактериальных свойств супергидрофобных, супергидрофильных и контрольных алюминиевых поверхностей с сорбированными бактериофагами использовались бактериальные штаммы *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086, *S. aureus* 2004 и бактериофаги *Acinetobacter phage* AM24, *Klebsiella phage* KpV811, *Pseudomonas phage* PA10, *Staphylococcus phage* SCH111.

Из-за значительного количества бактерий на поверхности супергидрофобных образцов требуются дополнительные подходы для усиления антимикробных свойств супергидрофобных поверхностей. Предварительная сорбция бактериофагов на супергидрофобные поверхности повысила эффективность уничтожения бактерий и решила проблему деконтаминации супергидрофобных поверхностей. Лазерная обработка образцов привела к образованию нескольких одинаковых плотных слоев, разделённых порами в форме капсул, с распределением пор по размерам в диапазоне 50-500 нм [115]. Для обоих типов пластин T1 и T2 поры служили для инкапсуляции и хранения частиц бактериофага после их осаждения из суспензии. Контакт бактериальной суспензии с текстурированными поверхностями с сорбированными бактериофагами, вызывал высвобождение бактериофага из пор и его распределение в бактериальной суспензии и на границе раздела между текстурированным образцом и каплей бактериальной суспензии. Для супергидрофильных поверхностей капиллярная пропитка пор облегчила диффузионное движение фагов из пор к бактериям с последующим бактериолизом. Несмачиваемость супергидрофобных образцов предотвращала как проникновение жидкости в поры текстуры, так и образование смачивающей

плёнки на поверхности. Диффузионная подвижность бактериофагов на супергидрофобной поверхности подавлялась. Заметное уменьшение краевого угла при длительном контакте между супергидрофобной поверхностью и каплей, содержащей клетки бактерий, диспергированных в эмульсии физиологический раствор/гексан, вызвало увеличение доли смоченной площади и переход бактериофагов в дисперсионную среду. Эти процессы обеспечивали взаимодействие бактериофагов с бактериями и лизис бактерий.

Подтверждающий эксперимент проводился следующим образом. Исследуемые образцы помещали в закрытые чашки Петри. Стоковые суспензии бактериофагов разводили в физиологическом растворе до 10^9 БОЕ/мл. Затем смешивали с гексаном в соотношении 1:1. По 100 мкл этой смеси аккуратно наслаивали на пластины и оставляли на 24 часа при комнатной температуре. Затем контрольные пластины переносили в стерильные пробирки с 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида для проверки титра бактериофагов, осажденных на поверхности. Для «отбивки» бактериофага пробирки с содержимым шуттелировали 30 минут при 170 об/мин. Затем из пробирок отбирали по 500 мкл жидкости, содержащей бактериофаг, и производили подсчёт негативных колоний по методу Грация. Остальные пластины контаминировали бактериальными штаммами бактерий, соответствующими сорбированным бактериофагам, в предварительно созданных условиях 100% влажности и оставляли при комнатной температуре. Через 1, 4 и 6 суток брали по 3 пластины, помещали в пробирки с 1 мл 0,9% раствора натрия хлорида и шуттелировали 30 минут при 170 об/мин. Затем из них отбирали 0,5 мл содержимого и делали ряд десятикратных разведений в 4,5 мл 0,9% растворе натрия хлорида, отбирали по 100 мкл из каждой пробирки с разведением и вносили в чашку Петри с 1,5% МХА, растирали стерильным стеклянным шпателем, давали подсохнуть и помещали в термостат при 37° С. Из оставшегося содержимого пробирки делали такой же высеv 100 мкл содержимого (нулевое разведение). Через 24 часа определяли титр бактерий. Значение антибактериальной активности рассчитывали по формуле, приведённой

выше. Остальной объём раститровывали и определяли титр бактериофагов.

Сравнение интенсивности обсеменённости микроорганизмами супергидрофобных пластин из алюминия с сорбированными на их поверхности бактериофагами и без них представлено на рисунке 21.

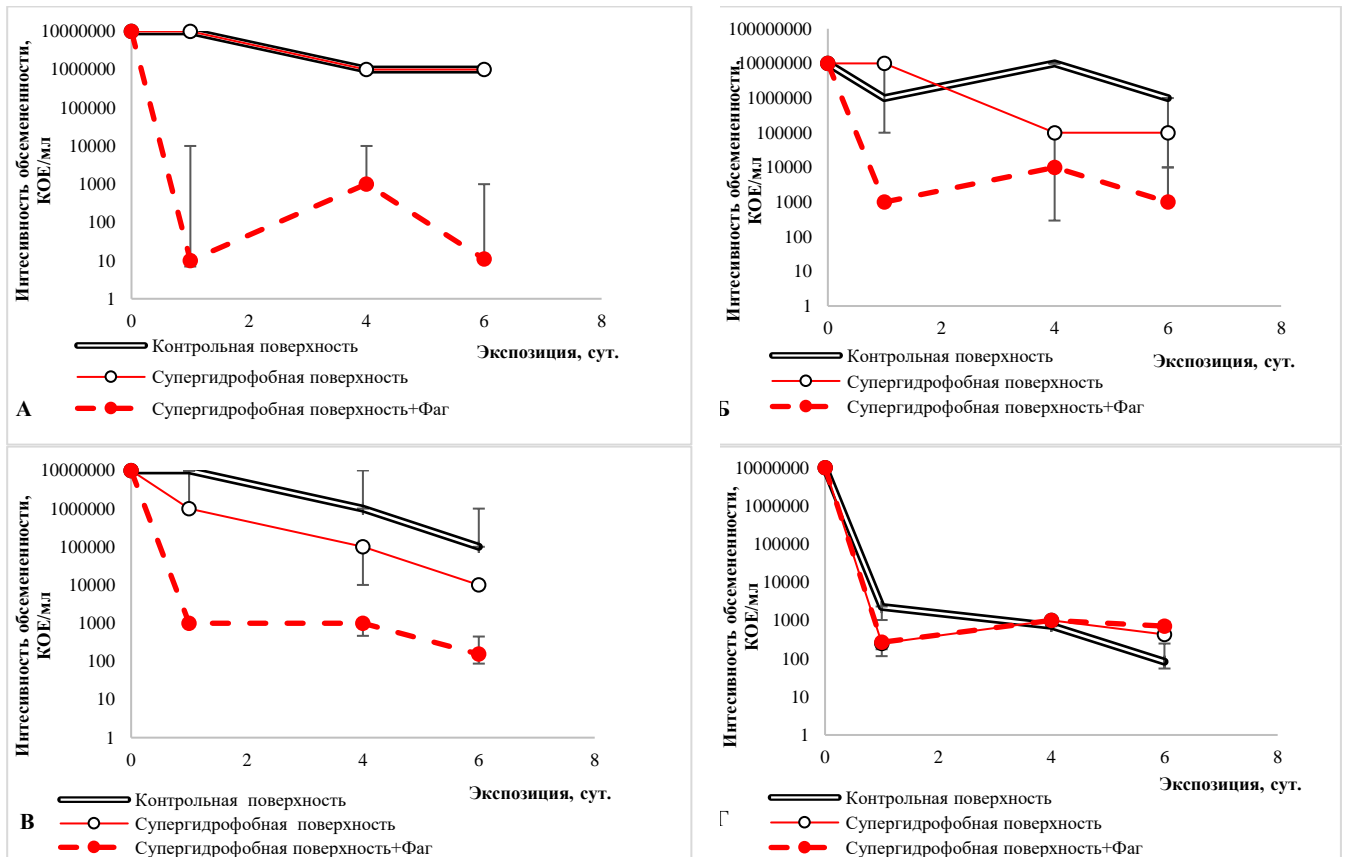


Рисунок 21 - Сравнение интенсивности обсеменённости микроорганизмами супергидрофобных пластин с сорбированными на их поверхности бактериофагами и без них с учётом интерквартильного размаха в экспериментах с *A. baumannii* B-05 (А), *K. pneumoniae* B-811 (Б), *P. aeruginosa* B-3086 (В), *S. aureus* 2004 (Г)

Бактериофаги, сорбированные на поверхность супергидрофобных и супергидрофильных пластин, не предотвращали бактериальную контаминацию исследуемых образцов, однако, значительно увеличивали показатель их антибактериальной активности. Уже на 1-е сутки эксперимента проявлялась эффективная антибактериальная активность супергидрофобных образцов с бактериофагами и составляла 6,00 при уничтожении 99,99% бактерий ($p=0,0495$), в то время как количество колониеобразующих единиц бактерий на супергидрофобных пластинах без бактериофагов было равнозначно количеству на контрольных до окончания эксперимента. В экспериментах с *K. pneumoniae* B-811

и *P. aeruginosa* B-3086 пластины с сорбированными бактериофагами проявляли эффективную антибактериальную активность на 1 сутки эксперимента, что выражалось в уничтожении 99,90% и 99,99% бактерий соответственно, антибактериальная активность супергидрофобных пластин без бактериофагов проявлялась с 1 сутки эксперимента, однако не превышала 90,00% на 6 сутки эксперимента.

Таким образом, антибактериальная активность супергидрофобных нанотекстурированных подложек из алюминиевого сплава AMG в отношении *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086, *S. aureus* 2004 за счет бактериофагов, сорбированных на их поверхностях, в среднем практически в 200 раз выше, чем без них. Сорбция бактериофагов на супергидрофильных пластинах не увеличивала антибактериальную активность.

5.2. Антибактериальная активность текстурированных образцов из меди с сорбированными бактериофагами

В экспериментах использованы ночные культуры бактериальных штаммов *E. coli* K12 C600, *K. pneumoniae* B-811, бактериофаги *Klebsiella phage* KpV811 и *Escherichia phage* ECD7. 3 пробирки с 1 мл ночной культуры бактерий в каждой откручивали в центрифуге при 5000 об/мин в течении 5 минут, надосадов удаляли и вносили по 1000 мкл PBS. Так повторяли 3 раза. Полученные клетки объединили в одной емкости и разбавляли PBS до 10 ЕД по ОСО, титровали методом десятикратных разведений до 10^1 КОЕ/мл для контроля титра и делали посев 100 мкл из каждого разведения на чашки с МХА, далее выполняли подсчет колоний и определяли титр. Таким образом подготовили бактериальную культуру.

Бактериофаги в титре 1×10^9 БОЕ/мл смешивали 1:1 с н-гексаном и шуттелировали на шейкере 10 минут при 250 об/мин. Супергидрофобные пластины погружали в полученную фаговую суспензию на 60 минут. После извлекали, помещали в открытую стерильную чашку Петри и оставляли при комнатной температуре и влажности на 24 часа. В качестве контроля титра

добавляли 0,5 мл фаговой суспензии к 4,5 мл МПБ и с помощью метода Грациа определяли титр.

Брали 5 бюксов: в первый бюкс помещали контрольную пластину меди, во второй – супергидрофильную, в третий – супергидрофобную, в четвертый – супергидрофобную пластину с сорбированным бактериофагом, пятый бюкс – пустой (контрольный). Затем в каждый бюкс вносили по 15 мл полученной бактериальной суспензии, закрывали и оставляли при комнатной температуре и влажности. Через 30 минут, 1, 2, 5 часов, 1, 2, 4, 6 суток отбирали по 100 мкл из каждого бюкса и вносили в чашку с МХА, растирали шпателем и инкубировали при 37° С 24 часа. Также отбирали по 500 мкл содержимого из каждого бюкса, титровали методом десятикратных разведений в физиологическом растворе до 10⁷ КОЕ/мл, делали высев 100 мкл из 7, 5, 3 разведения на МХА, разносили шпателем, инкубировали при 37° С. Через 24 часа определяли титр бактерий. Значение антибактериальной активности рассчитывали по формуле, приведённой выше.

Данные об изменении титра *E. coli* K12 C600 и *K. pneumoniae* B-811 в бюксе в зависимости от времени контакта с супергидрофильными, супергидрофобными и контрольными медными подложками, а также с супергидрофобными поверхностями с предварительно сорбированными бактериофагами представлены на рисунках 22 и 23.

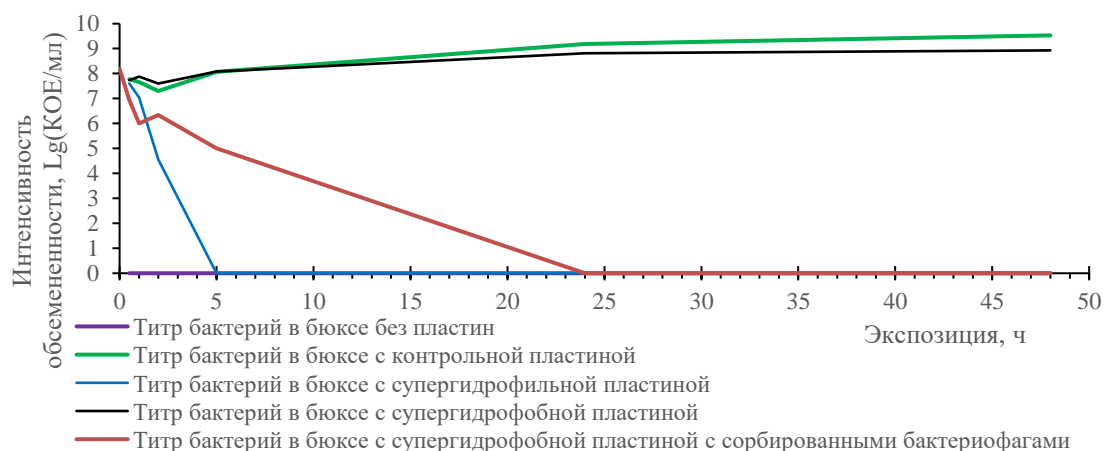


Рисунок 22 - Динамика изменения титра бактерий на супергидрофильных, супергидрофобных, супергидрофобных с сорбированными бактериофагами и контрольных поверхностях из медного сплава М1М в эксперименте с погружением в суспензию *E. coli* K12 C600

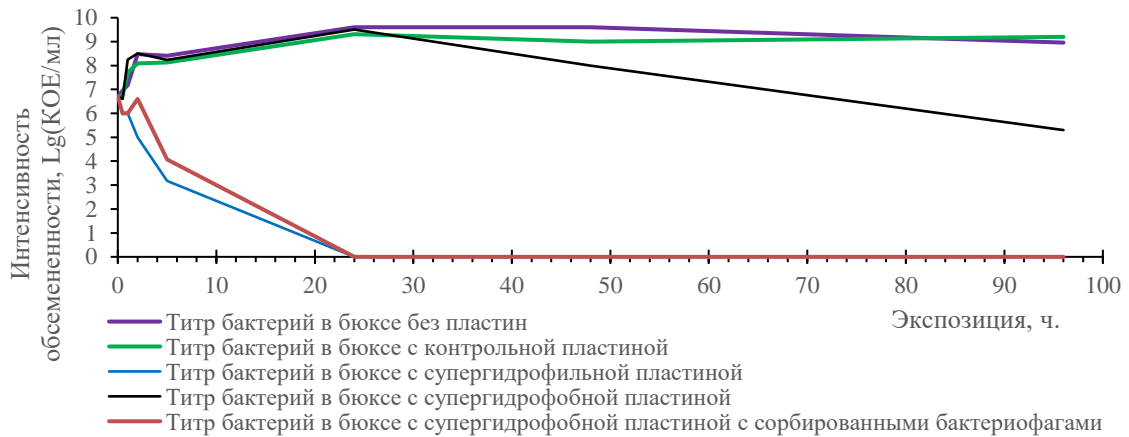


Рисунок 23 - Динамика изменения титра бактерий на супергидрофильных, супергидрофобных, супергидрофобных с сорбированными бактериофагами и контрольных поверхностях из медного сплава М1М в эксперименте с погружением в суспензию *K. pneumoniae B-811*

Для сравнения приводится титр клеток бактерий в дисперсионной среде, выдержанной без контакта с медными подложками. Титр бактерий в бюксах с контрольными пластинами в опытах с обоими микроорганизмами соизмерим с титром бактерий в бюксе без исследуемых образцов и плавно увеличивается от первоначального до 9 логарифмических порядков в обоих случаях, изменения окраски суспензии при этом не наблюдается, что может свидетельствовать об инертности меди в составе нетекстурированной поверхности по отношению к бактериальной суспензии в объёме, представленном в эксперименте. Время начала синей окраски бактериальной суспензии совпадает с началом снижения титра на супергидрофильных, супергидрофобных, супергидрофобных поверхностях с осаждёнными бактериофагами в экспериментах с обоими микроорганизмами. Суспензии обеих бактерий в бюксах с супергидрофильными подложками приобретают синюю окраску, интенсивность которой увеличивается уже к 30 мин эксперимента. Титр бактерий в бюксе с *E. coli K12 C600* и *K. pneumoniae B-811* начинает снижаться, и антибактериальная активность супергидрофильных поверхностей достигает эффективных показателей 3,70 и 3,47 и уничтожения 99,98% и 99,96% бактерий соответственно уже при измерении через 2 час. Полная эрадикация микроорганизмов в эксперименте с *E. coli K12 C600* и *K. pneumoniae B-811* достигается через 5 и 24 часа соответственно и сохраняется

до конца эксперимента.

В бюксах с супергидрофобными пластинами с сорбированными на их поверхности бактериофагами наблюдается снижение титра пропорционально интенсивности окрашивания суспензии с начала эксперимента. Эффективные показатели антибактериальной активности этих поверхностей 3,3 и 4,3 достигаются к 5 час от начала эксперимента, полная эрадикация бактерий происходит через 24 час в обоих случаях. В бюксах с супергидрофобными медными пластинами без сорбированных бактериофагов антибактериальная активность достигает эффективного показателя в случае с *E. coli K12 C600*, где титр бактерий снижается на 99,97% на 4 сут эксперимента, в экспериментах с *K. pneumoniae B-811* антибактериальная активность на 2 сут составляет 0,44 и гибели 63,80% бактерий.

Поскольку супергидрофобное покрытие предназначено для защиты металлической подложки от её взаимодействия с компонентами суспензии и повышения устойчивости к коррозии, такое покрытие приводит к подавлению перехода меди из медной подложки в ионную форму в дисперсионной среде, тем самым сводя к минимуму выброс ионов меди в жидкую среду. Первичная адгезия бактерий к супергидрофобной поверхности ослабляется из-за действия поверхностных сил, о чем было сказано выше. Рост титра наблюдался до начала интенсивного процесса коррозии. Такой процесс сопровождается увеличением концентрации ионов меди в суспензии и может быть легко обнаружен по изменению окраски суспензии. Через 2 дня контакта супергидрофобной подложки с суспензией *E. coli K12 C600* и через 1 день контакта с суспензией *K. pneumoniae B-811* количество живых бактерий начинает уменьшаться, достигая нулевого значения для *E. coli K12 C600* через 6 дней воздействия супергидрофобной медной подложки. Устойчивость клеток *K. pneumoniae B-811* к контакту с ионами меди несколько выше. Через 6 дней титр живых клеток становится на 2 порядка ниже титра начальной суспензии.

Таким образом, было исследовано влияние коррозионных процессов на

морфологию клеток, осаждённых на супергидрофобную поверхность. СЭМ изображения бактерий на супергидрофобных медных поверхностях после 48 часов контакта между поверхностью и бактериальной суспензией показывают, что как для клеток *E. coli* K12 C600 (Рисунок 6 с), так и для клеток *K. pneumoniae* B-811 (Рисунок 6 d) наблюдается потеря целостности клеток, которая возникает в результате пирсинга клеточной мембраны элементами нанотекстуры, растяжения и деформации клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ИСМП, являются одной из ключевых проблем современной медицины, касающейся безопасности пациентов, оказывающей значительное влияние на заболеваемость, смертность, инвалидизацию и использование ресурсов систем здравоохранения всего мира. Значительная часть патогенов ИСМП относится к представителям группы ESKAPE-патогенов, в которую входят *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter species*. Каждый из этих видов обладает природной устойчивостью к одному или нескольким АМП, отдельные штаммы полирезистентны [77, 238].

Бесконтрольное и нерациональное использование АМП в медицине и сельском хозяйстве привело к глобальной проблеме растущей антибиотикорезистентности. В результате уже существуют многочисленные случаи выделения штаммов бактерий, устойчивых ко всем существующим АМП [22, 99, 133].

Одним из лучших способов защиты от нежелательного роста бактерий в промышленности и медицине являются дезинфицирующие средства. Они широко используются в большинстве стран мира и имеют жизненно важное значение для обеспечения стандартов качества и здоровья в пищевой промышленности, сельском хозяйстве, медицинских учреждениях, домашних хозяйствах, косметических и фармацевтических продуктах [55, 140]. Как и в случае с АМП, резистентность к дезинфектантам развивается устрашающе быстрыми темпами [229, 276]. Поэтому разработка новых АМП и альтернативных способов борьбы с инфекциями стала первостепенной задачей организаций здравоохранения всего мира.

Одним из перспективных решений в этом направлении является разработка бактерицидных поверхностей, снижающих риск распространения ESKAPE-патогенов. Путём подбора режимов и условий текстурирования на базе ИФХЭ

РАН, нами были получены супергидрофильные поверхности из алюминия, меди, магния, нержавеющей стали. После обработки УФ-озоном и хемосорбции фтороксисилана исследуемые образцы приобретали свойство супергидрофобности. Экстремальная смачиваемость поверхностей подтверждалась измерениями углов смачивания и скатывания.

Для оценки антибактериальной активности металлических поверхностей с экстремальной смачиваемостью разработаны три протокола, моделирующих различные пути распространения бактериальных инфекций в медицинских учреждениях. Первый протокол «с высыханием капли» соответствовал сухому контакту, когда каплю бактериальной суспензии, контаминирующей исследуемую поверхность, высушивали, определяли антибактериальную активность. Вторым протоколом «с сохранением капли» соответствовал влажному контакту, где капля бактериальной суспензии находится в контакте с поверхностью без существенного испарения. Для обеспечения сохранения капли бактериальной суспензии на всех типах поверхностей на протяжении всего эксперимента обеспечены условия 100% влажности. Третий протокол «с погружением» позволил воспроизвести влажный контакт объёмной бактериальной суспензии с погруженным в неё исследуемым образцом и оценить антибактериальную активность текстурированных поверхностей в отношении планктонной формы бактерий, определить собственную антибактериальную активность металлов, из которых они изготовлены. В экспериментах использован органический растворитель н-гексан, который имитировал вещества, входящие в состав биологических жидкостей (фактора передачи) бактериальных инфекций в условиях медицинского учреждения. Использование н-гексана позволило сорбировать бактериальную суспензию, импрегнировать бактериофаги на супергидрофобные поверхности, что в водной среде невозможно.

В экспериментах изучена антибактериальная активность супергидрофильных и супергидрофобных пластин из алюминиевого сплава AMG с сорбированными на их поверхности бактериофагами *Acinetobacter phage AM24*, *Klebsiella phage*

KpV811, *Pseudomonas phage PA10*, *Staphylococcus phage SCH111* и без них в отношении бактериальных штаммов *A. baumannii B-05*, *K. pneumoniae B-811*, *P. aeruginosa B-3086*, *S. aureus 2004*. Применение методики измерения угла смачивания и скатывания после сорбции на поверхность пластин бактерий и бактериофагов позволило выявить достаточное сохранение супергидрофобных свойств и определённую коррозионную стойкость поверхностей при контаминации в условиях, близких к реальным. Результаты исследования смачиваемости поверхностей указывают на экстремальные водоотталкивающие свойства супергидрофобных образцов как по отношению к водно-солевым растворам (угол смачивания более 170° , угол скатывания менее $1,5^{\circ}$), так и по отношению к суспензиям органических веществ в солевых растворах (угол смачивания более 170° , угол скатывания менее $4,0^{\circ}$). Осаждение бактерий на поверхности исследуемых образцов в экспериментах «с высушиванием капли» позволило определить основные механизмы взаимодействия живых микробных клеток и текстур нанотекстурированных поверхностей. В экспериментах с пластинами из медного сплава М1М с помощью сканирующей электронной микроскопии было показано распределение бактерий по поверхности исследуемых образцов и визуализирован механизм контактного уничтожения - эффект пирсинга бактерий текстурами пластин. Бактерицидный эффект контактного повреждения бактерий текстурированными поверхностями подтверждён культуральными методами. На текстурированных пластинах из алюминия механизм контактного уничтожения был также подтвержден культуральными методами. В экспериментах «с сохранением капли» для пластин созданы условия повышенной влажности, позволяющие избежать гибель микроорганизмов от высушивания и нивелировать погрешности в оценке истинного бактерицидного эффекта пластин. Выживаемость бактерий на контрольных образцах из алюминия, магния, нержавеющей стали в течении всех экспериментов свидетельствует об успешности разработанной модели эксперимента. Антибактериальная активность разных типов поверхностей из

алюминия рассчитана и оценена модифицированным культуральным методом согласно стандарту ISO 22196:2011, что позволило выявить более высокую антибактериальную активность супергидрофильных поверхностей по сравнению с супергидрофобными. Ранее в исследованиях ставился акцент на изучение антибактериальной эффективности супергидрофобных поверхностей, и главным механизмом этой эффективности считалось водоотталкивание, поэтому супергидрофильным поверхностям уделяли гораздо меньше внимания [91, 118, 293]. В проведенных исследованиях пластин из алюминиевого сплава AMG было показано, что на супергидрофильных поверхностях антибактериальная активность реализуется быстрее и эффективнее. В результате проведенных экспериментов отмечается более высокая антибактериальная активность супергидрофильных поверхностей в сравнении с супергидрофобными. Снижение микробной обсемененности супергидрофильных подложек на 5 логарифмических порядков и эффективная антибактериальная активность, выражающаяся в 99,99% сокращении жизнеспособных клеток бактерий ($p=0,0495$), наблюдалась в опыте с *A. baumannii* B-05 уже к 1-м суткам эксперимента. При этом до 6 суток исследования количество бактерий на контрольных образцах оставалось эквивалентно количеству на супергидрофобных. В экспериментах с *P. aeruginosa* B-3086 и *K. pneumoniae* B-811 тенденция сохранялась. В эксперименте со *S. aureus* 2004 на 1-е сутки эксперимента на всех типах пластин отмечалось падение титра бактерий, однако, тенденция более выраженного антибактериального эффекта супергидрофильных пластин по сравнению с супергидрофобными сохранялась.

Установлено, что супергидрофобные поверхности не обладают выраженной истинной антибактериальной активностью, антибактериальный эффект формируется в основном за счёт препятствия первичной адгезии и колонизации бактерий, что согласуется с данными научной литературы [66, 91, 115, 121]. Впервые для усиления бактерицидного эффекта супергидрофобных покрытий из алюминиевого сплава AMG при помощи водно-гексановой эмульсии на их поверхность были сорбированы бактериофаги. Уже на 1-е сутки эксперимента

проявлялась эффективная антибактериальная активность супергидрофобных образцов с бактериофагами и составляла 6,00 при уничтожении 99,99% бактерий ($p=0,0495$), в то время как количество колониеобразующих единиц бактерий на супергидрофобных пластинах без бактериофагов было равнозначно количеству на контрольных до окончания эксперимента. В экспериментах с *K. pneumoniae* B-811 и *P. aeruginosa* B-3086 пластины с сорбированными бактериофагами проявляли эффективную антибактериальную активность на 1 сутки эксперимента, что выражалось в уничтожении 99,90% и 99,99% бактерий соответственно, антибактериальная активность супергидрофобных пластин без бактериофагов проявлялась с 1 сутки эксперимента, однако не превышала 90,00% на 6 сутки эксперимента. Сохранение бактериофагов на поверхности пластин до конца эксперимента подтверждалось экспериментально. В результате установлено, что бактериофаги не обеспечивали эрадикацию культур бактерий, но значительно усиливали антибактериальную активность поверхностей супергидрофобных пластин. Антибактериальная активность супергидрофильных поверхностей в присутствии фагов при этом не изменялась.

В экспериментах по изучению антибактериальной активности супергидрофильных и супергидрофобных пластин из медного сплава М1М в отношении *E. coli* K12 C600 и *K. pneumoniae* B-811 выявлены резкие изменения в поведении бактерий на медных поверхностях с различным типом текстурирования и в различных экспериментальных условиях. В экспериментах с высыханием капли дисперсионная среда испарялась с поверхности пластин и гибель бактерий происходила на всех типах образцов, что, по всей видимости, происходило в результате контакта бактерий с поверхностью, наночастицами меди и её оксидов, что согласуется с данными литературы [85, 236, 265, 266]. Бактерицидное действие меди обусловлено захватом ионов меди бактерией, деформацией клеточной стенки и пенетрацией её поверхности, приводящими к нарушению целостности мембраны, образованию активных форм кислорода и повреждению генетического материала. Ещё одним фактором, определяющим

элиминацию клеток бактерий на всех изученных поверхностях, является прямой контакт с текстурами исследуемых образцов из медного сплава М1М. С помощью электронной микроскопии мы визуализировали бактерии, находящиеся непосредственно на поверхности исследуемых образцов. На СЭМ-изображениях отмечается частичное высвобождение цитозоля с последующим некоторым уплощением формы клеток *E. coli*. У бактерии, прикреплённой к супергидрофильной подложке, наблюдалось прокалывание мембраны, деформация, потеря внутриклеточной жидкости и бактериолиз. Хотя частичное разрушение структур клетки обнаружено и для супергидрофобных поверхностей, но деградация формы клеток бактерий, отложившихся на этой поверхности, меньше. Для супергидрофобных образцов наблюдалось очень чёткое распределение бактерий в сравнении с супергидрофильными и контрольными. Для супергидрофобного образца бактерии в основном занимали вершины гребней. Это объясняется гетерогенным режимом смачивания супергидрофобной поверхности, когда канавки захватывают воздух и не контактируют с жидкой средой.

В условиях экспериментов с сохранением капли наблюдается выживание клеток в зависимости от смачиваемости исследуемых поверхностей. На контрольных образцах меди капля имеет довольно большую площадь контакта, определяемую краевым углом равным $83,0 \pm 1,5^\circ$. Установлено, что осаждение бактерий из суспензии под действием силы тяжести обеспечивает прямой контакт клеток с поверхностью меди. Для супергидрофильных поверхностей полное растекание капли приводит к равномерному распределению суспензии по всему образцу с прямым контактом между клетками бактерий и элементами текстур поверхности. Антибактериальная активность поверхностей из меди обусловлена растворением меди в дисперсионной среде из-за коррозионных процессов на границе суспензия/медь. Био- и электрохимическая коррозия супергидрофильных поверхностей проходит значительно интенсивнее, чем нетекстурированных контрольных, за счёт большей площади контакта с микробной суспензией, что

дополнительно усиливает антибактериальную активность этих поверхностей. Регулирование содержания меди в живых клетках осуществляется с помощью контроля проницаемости наружной и внутренней бактериальных мембран для ионов меди, внутри- и внеклеточной секвестрации ионов меди, эффлюксных насосов, ферментативной инактивации и снижения чувствительности клеточных мишеней к ионам металлов [64, 146, 201, 280]. Для концентраций выше некоторого критического значения эти механизмы не позволяют защитить от образования активных форм кислорода и токсического действия меди. В наших экспериментах, как следует из анализа титра жизнеспособных клеток *E. coli* K12 C600 и динамики изменения концентрации меди, критической концентрацией можно считать 0,4 мг/л. За счёт более интенсивных процессов коррозии бактерицидный эффект супергидрофильной поверхности медного образца выше, чем нетекстурированной меди, что отражается в отсутствии роста *K. pneumoniae* B-811 через 30 мин экспозиции и падении титра почти на 3 логарифмических порядка соответственно. В экспериментах с *E. coli* K12 C600 отсутствие роста на супергидрофильной и контрольной поверхностях в первом измерении через 30 минут не позволило зарегистрировать эту разницу, что, вероятно, произошло из-за особенностей микроорганизма. Для супергидрофобной поверхности только вершины гребней текстур контактируют с суспензией, и осаждение бактерий и бактериальных агрегатов происходит на вершины текстур, что продемонстрировано на СЭМ-изображениях. В этом случае клетки контактируют со слоем длинноцепочечного гидрофобного агента фтороксисилана, а не с медью или оксидом меди. Коррозия супергидрофобной поверхности, как следует из представленных электрохимических данных, значительно подавляется, что приводит к ингибированию выделения ионов меди в суспензию. Результаты исследований электрохимических свойств образцов указывают на незначительную деградацию барьерных свойств супергидрофобной поверхности меди из-за перехода заряда и ионов через поверхностный слой. При этом титр обоих микроорганизмов не снижается, что свидетельствует о низком

контактном бактерицидном эффекте и возможном развитии устойчивости бактерий в результате воздействия низких концентраций ионов меди.

Механизм первичной адгезии бактерий - один из важных процессов взаимодействия микроорганизмов и исследуемой поверхности. Бактерия отделена от поверхности слоем водной фазы, её взаимодействие с поверхностью определяется различными типами поверхностных сил. Ван-дер-Ваальсовы, структурные, электростатические и стерические силы являются одними из наиболее важных для определения способности бактерий прикрепляться к поверхности. Поверхностный заряд супергидрофильной поверхности оксида алюминия и меди в нейтральных растворах положительный [143], тогда как заряд бактерий, определенный в результате проведенных экспериментов, отрицательный (*K. pneumoniae* B-811 - -27 мВ, *A. baumannii* 1053 - -43,1 мВ, *S. aureus* 2004 - -42,7 мВ, *P. aeruginosa* 3086 - -17 мВ), что приводит к возможному электростатическому взаимодействию бактерий с текстурированной поверхностью. Основная физическая сила, определяющая первичную адгезию отрицательно заряженных клеток бактерий к положительно заряженным подложкам - электростатическое притяжение. Поверхностный заряд супергидрофобной поверхности оксида алюминия и меди является отрицательным [46, 172, 218, 294], что приводит к электростатическому отталкиванию отрицательно заряженных бактерий от отрицательно заряженной супергидрофобной поверхности. Стерическое взаимодействие между хорошо упорядоченным слоем фтороксисилана, хемосорбированным на супергидрофобной поверхности, и липополисахаридом бактерий способствует отталкиванию. Отрицательно заряженные бактерии имеют тенденцию отталкиваться от супергидрофобной поверхности, сохраняя слой водного раствора, отделяющий бактерии от поверхности и защищающий их от повреждения наружной мембраны. Осаждение бактерий на поверхности, управляемое поверхностными силами, сопровождается либо обратимой, либо необратимой адгезией. Для достижения последнего клетки бактерий в результате

своей метаболической активности используют пили или вырабатывают поверхностные адгезины [45].

Одинаковые знаки и достаточно высокие абсолютные значения дзета-потенциалов бактерий и бактериофагов (*Klebsiella phage KpV811* - -32,8 мВ, *Acinetobacter phage AM24* - -24 мВ, *Pseudomonas phage PA10* - -32,5 мВ, *Staphylococcus phage SCH111* - -24,4 мВ), определенных в результате проведенных экспериментов, позволяют ожидать, что электростатическое отталкивание в водных средах будет доминировать над вандерваальсовым притяжением, что может исключить электрокинетический сценарий «стыковки» бактерий и бактериофагов в водных растворах.

В экспериментах с погружением в микробную суспензию образцов из меди обнаружено отсутствие бактерицидного эффекта контрольных медных подложек. Титр бактерий в бюксах с нетекстурированной пластиной эквивалентен титру бактерий в бюксе без образцов. В бюксах с погруженной супергидрофильной пластиной наблюдалось снижение титра *E. coli K12 C600* и *K. pneumoniae B-811* пропорционально появлению синего окрашивания суспензии: антибактериальная активность супергидрофильных поверхностей достигает эффективных показателей 3,70 и 3,47 и уничтожения 99,98% и 99,96% бактерий соответственно уже при измерении через 2 час. Полная эрадикация микроорганизмов в эксперименте с *E. coli K12 C600* и *K. pneumoniae B-811* достигается через 5 и 24 часа соответственно и сохраняется до конца эксперимента.

В бюксах с супергидрофобными пластинами с сорбированными на их поверхности бактериофагами наблюдается снижение титра пропорционально интенсивности окрашивания суспензии с начала эксперимента. Эффективные показатели антибактериальной активности этих поверхностей 3,30 и 4,30 достигаются к 5 часу от начала эксперимента, полная эрадикация бактерий происходит через 24 часа в обоих случаях. В бюксах с супергидрофобными медными пластинами без сорбированных бактериофагов антибактериальная активность достигает эффективного показателя в случае с *E. coli K12 C600*, где

титр бактерий снижается на 99,97% на 4 сут эксперимента, в экспериментах с *K. pneumoniae* B-811 антибактериальная активность на 2 сут составляет 0,4 и приводит к гибели 63,80% бактерий. Цитотоксичность супергидрофобных медных пластин ниже супергидрофильных, коррозионная стойкость, следовательно, и препятствие выделению в окружающую среду активных частиц меди, выше, что может быть использовано при внедрении их в практику, например, в состав поверхностей хирургического инструментария, инвазивных устройств или чувствительных к обработке дезинфектантами частей эндоскопических приборов. При этом антибактериальная активность супергидрофобных пластин может быть эффективно усилена сорбцией бактериофагов.

В опытах по изучению антибактериальных свойств супергидрофильных и супергидрофобных магниевых пластин стоит отметить антибактериальную активность самого магниевого сплава МА8, которая отмечалась в бюксах с контрольной пластиной и бактериями *E. coli* K12 C600 и *P. aeruginosa* B-3086 уже на 2 и 3 часу измерения (0,36 и 0,09), и выражалась в 57,10% и 20,00% сокращении жизнеспособных клеток соответственно и нарастанием до эффективных показателей 99,99% к 48 час в обоих случаях. Незначительная антибактериальная активность контрольных пластин по отношению к *K. pneumoniae* появляется с первых минут исследования и составляет 0,06 при первом измерении через 1 час со стремительным нарастанием и полной элиминацией бактерий в суспензии к 12 час опыта. Антибактериальная активность супергидрофобных и супергидрофильных пластин в эксперименте с *E. coli* K12 C600 нарастает с начала эксперимента и достигает эффективных показателей (3,17 и 5,60) и снижения жизнеспособных бактерий 99,93% и 99,99% соответственно к 24 час, к 6 сут происходит полная эрадикация бактерий на обоих типах поверхностей. В эксперименте с *K. pneumoniae* B-811 антибактериальная активность супергидрофильной поверхности нарастает с 1 часа эксперимента и достигает эффективных показателей 2,60 и 99,75% сокращения бактерий к 12 час эксперимента. Титр бактерий на супергидрофобной поверхности начинает

литически снижаться с 6 часа и достигает эффективного показателя 5,10 и 99,99% сокращения титра бактерий на супергидрофильной пластине к 36 часу от начала эксперимента. В эксперименте с *P. aeruginosa* B-3086 антибактериальная активность супергидрофильной пластины заметно увеличивается, начиная с 6 часа эксперимента, и к 12 часам достигает эффективного показателя 2,40 и 99,63% сокращения бактериальной обсемененности. Незначительная антибактериальная активность супергидрофобной поверхности появляется на 2 час эксперимента и достигает 0,80 и 85,00% сокращения бактерий к 48 часу от начала эксперимента. Поскольку полученные концентрации Mg^{2+} имеют тот же порядок, что и типичные концентрации в клеточных жидкостях и заметно ниже, обсуждаемых в литературе как токсичные механизм уничтожения бактерий, связанный с осмотическим действием сверхвысоких концентраций магния в рассматриваемых системах, можно исключить [164, 171].

Количественные изменения в бюксах со всеми исследуемыми образцами сопровождались появлением активного газообразования и возникновением «струпа» на поверхностях пластин, а затем и диффузного помутнения микробных суспензий в бюксах с исследуемыми образцами. Элементы текстур, а также изменение pH среды и конкурентное взаимодействие с ионами Ca^{2+} – все это оказывает бактерицидный эффект и препятствуют колонизации бактерий, что может быть использовано в борьбе с ИСМП. Полученные изменения и антибактериальная активность магния подтверждаются данными литературы, что в сочетании с активными коррозионными процессами, делает возможной идею использования этого сплава как биоразлагаемого материала медицинских имплантов [95, 161, 221, 274].

Нержавеющая сталь широко используется в медицине благодаря своей прочности, хорошей износостойкости и высокой коррозионной стойкости, а также биосовместимости с живой тканью, в качестве зубных имплантатов, бедренных и коленных протезов, костных пластин и винтов для внутренней фиксации [57, 29, 198, 296]. В экспериментах по изучению свойств супергидрофильных и

супергидрофобных пластин из нержавеющей стали марки 12Х18Н10Т в отношении *A. baumannii* В-05 нами была установлена высокая антибактериальная активность супергидрофильных покрытий нарастающая с 5 часа эксперимента и способствующая полной эрадикации бактерий на поверхности к 24 часу эксперимента.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны модели контаминации бактериальными штаммами *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086 и *S. aureus* 2004 нанотекстурированных поверхностей с экстремальной смачиваемостью из алюминиевого сплава AMG, медного сплава M1M, магниевого сплава M8 и нержавеющей стали марки 12X18H10T, имитирующие различные условия распространения ESKAPE-патогенов: в условиях «сухого» контакта в экспериментах с высыханием бактериальной суспензии на поверхности образцов, «мокрого» контакта с созданными условиями 100% влажности и «влажного» контакта в экспериментах с погружением исследуемых образцов в бактериальную суспензию.

2. Взаимодействие бактериальных штаммов с супергидрофильными поверхностями из алюминиевого сплава AMG и медного сплава M1M реализуется по механизму контактного уничтожения бактерий за счет пенетрации, деформации и повреждения клеточной мембраны текстурами на всей поверхности образцов, а в случае с супергидрофобными поверхностями – контактного уничтожения на вершинах гребней текстур, препятствия первичной адгезии и предупреждения колонизации бактерий, что связано с отрицательными значениями дзета-потенциалов бактериальных штаммов (*K. pneumoniae* B-811 - -27 мВ, *A. baumannii* 1053 - -43,1 мВ, *S. aureus* 2004 - -42,7 мВ, *P. aeruginosa* 3086 - -17 мВ), положительным зарядом у супергидрофильных металлических поверхностей в водных растворах и отрицательным - у супергидрофобных образцов.

3. Отрицательные значения дзета-потенциалов бактериофагов (*Klebsiella phage* KpV811 - -32,8 мВ, *Acinetobacter phage* AM24 - -24 мВ, *Pseudomonas phage* PA10 - -32,5 мВ, *Staphylococcus phage* SCH111 - -24,4 мВ) и штаммов бактерий позволяют исключить электростатический сценарий «стыковки» фага с бактериальной клеткой. Положительный заряд супергидрофильных образцов

способствует адгезии отрицательно заряженных бактериофагов на их поверхности. При взаимодействии бактериофагов с супергидрофобными образцами свойства последних – водоотталкивание и отрицательный заряд на границе с водными растворами, нивелируются за счёт применения в модельных экспериментах гексана, позволяющего осуществить сорбцию фаговых частиц на данном типе поверхностей.

4. Выраженным антибактериальным эффектом обладают супергидрофильные нанотекстурированные поверхности из алюминиевого сплава AMG, так в экспериментах по контаминации образцов *A. baumannii* B-05, *K. pneumoniae* B-811, *P. aeruginosa* B-3086, *S. aureus* 2004 он превышал антибактериальную активность супергидрофобных образцов в 2600 раз.

5. Разработанные ESKAPE-элиминирующие бионаноструктурированные композиции, представляющие собой устойчивые соединения супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностей из алюминиевого сплава AMG и медного сплава M1M с бактериофагами *Acinetobacter phage AM24*, *Klebsiella phage KpV811*, *Pseudomonas phage PA10*, *Staphylococcus phage SCH111* в титре не менее 10^6 БОЕ/мл, снижают риск контаминации образцов бактериальными штаммами *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, при чем антибактериальная активность супергидрофобных нанотекстурированных подложек из алюминиевого сплава за счет бактериофагов, сорбированных на их поверхностях, становится выше в 200 раз.

6. Коррозионные процессы, в результате которых происходит высвобождение наночастиц металлов, усиливают антибактериальную активность нанотекстурированных поверхностей из медного сплава M1M, что проявляется при увеличении концентрации Cu^{2+} выше 0,4 мг/л дисперсионной среды.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанные биотехнологические подходы к созданию композиций бактериофагов сорбированных на супергидрофильных и супергидрофобных нанотекстурированных поверхностях из алюминия, меди, магния и нержавеющей стали могут применяться для других металлов и полимерных материалов, применяемых в практике здравоохранения.

2. Разработанная ESKAPE-элиминирующая бионаноструктурированная композиция рекомендуется к использованию на предприятиях медицинской промышленности при производстве хирургических инструментов, имплантируемых устройств, деталей эндоскопической техники, элементов операционных столов, ручек дверей и другого применяемого в лечебно-профилактических организациях оборудования с целью снижения риска распространения возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

3. При моделировании бактериальной контаминации металлических поверхностей с экстремальной смачиваемостью следует учитывать ростовые и ингибирующие свойства загрязняемых ESKAPE-патогенами объектов соответствующие реальным условиям лечебно-профилактических организаций.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

В дальнейшем предполагается продолжить исследования антибактериальной активности ESKAPE-элиминирующих бионаноструктурированных композиций, изготовленных из разнородных полимеров и металлических сплавов с использованием различных режимов текстурирования и сорбированных на них штаммов бактериофагов, а также видов бактерий, используемых для контаминации поверхностей.

Дополнительно запланированы исследования антибактериальных свойств ESKAPE-элиминирующих бионаноструктурированных композиций, входящих в состав поверхностей медицинских инструментов и инвентаря, непосредственно в лечебно-профилактических организациях.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АА – антибактериальная активность

БОЕ – бляшкообразующие единицы

БХ – бензалкония хлорида

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИСМП - инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи

КОЕ – колониеобразующие единицы

ЛПО – лечебно-профилактическая организация

МЛУ – множественная лекарственная устойчивость

МПА – мясопептонный агар

МПБ – мясопептонный бульон

МХА – агар Мюллера-Хинтона

CDC – Centers for Disease Control and Prevention USA - Центр по контролю и профилактике заболеваний США

CRISPR – Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats — короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами

ISO – International Organization for Standardization (Международная организация по стандартизации)

MALDI-TOF MS – Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight

Mass Spectrometer – Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация – время пролетная масс-спектрометрия

MRSA - methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* – Метициллин-резистентный золотистый стафилококк

US FDA – United States Food and Drug Administration (Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов Министерства здравоохранения и социальных служб США)

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акимкин, В. Г. Актуальные направления научных исследований в области неспецифической профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи // Поликлиника. – 2014. – № 6 – С 6-9.
2. Акимкин, В. Г. Эпидемиология гепатитов В и С в лечебно-профилактических учреждениях / В.Г. Акимкин, Т.А. Семенов, Г.Ю. Никитина, М.А. Годков, С.В. Скворцов. – М.: Издательский дом «Бионика Медиа», – 2013. – 216 с. – ISBN 978-5-9903962-1-0.
3. Акимкин, В.Г. Актуальные направления научных исследований в области неспецифической профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи / В.Г. Акимкин, А.В. Тутельян, Е.Б. Брусина // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. — 2014.— № 2.— С. 40–44.
4. Акимкин, В.Г. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП) / В.Г. Акимкин, А.В. Тутельян, О.А. Орлова, А.А. Голубкова, О.А. Квасова, Н.В. Сычева, Т.С. Скачкова // Информационный бюллетень за 2018 г. – 2019. – С. 51.
5. Алешкин, А.В. Бактериофаги в инфекционной патологии. Часть I: история исследований до широкого применения антибиотиков. / А.В. Алешкин, В.А. Алешкин, С.С. Афанасьев, Х.М. Галимзянов, О.В. Рубальский, Д.Л. Теплый, А.Х. Ахминеева, И.А. Киселева, С.С. Бочкарева, Е.Е. Рубальская, Е.О. Рубальский, К.Н. Смирнова, Э.Р. Зулкарнеев, А.Д. Теплый // Астраханский медицинский журнал. – 2016. - Т. 11, № 2. - С. 8-16.
6. Алешкин, А. В. Возможности применения бактериофагов в качестве пробиотических средств деконтаминации в области питания / А. В. Алешкин, М. В. Зейгарник // Вопросы диетологии. – 2012. – № 4. – С. 24–34
7. Бойнович, Л. Б. Супергидрофобные покрытия новый класс полифункциональных материалов // Вестник Российской академии наук. – 2013. – Т. 83, № 1. – С. 8-18.

8. Боровиков, В.П. STATISTICA: Статистический анализ и обработка данных в среде Windows / В.П. Боровиков, И.П. Боровиков. — Москва : Филинь, 1997. — 608 с.
9. Брусина, Е. Б. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи: современная доктрина профилактики. Часть 1. Исторические предпосылки / Е.Б. Брусина, Л.П. Зуева, О.В. Ковалишена, В.Л. Стасенко, И.В. Фельдблюм, Н.И. Брико // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2018. – Т. 17, № 5 (102). – С. 17-24.
10. Гомон, Ю. М. Бремя резистентности бактериальных инфекций, вызванных резистентными штаммами *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae* в России / Ю.М. Гомон, Ю.С. Светличная, А.С. Колбин, С.В. Сидоренко, М.Г. Дарьина, Л.П. Зуева, А.А. Курылев, И.Г. Иванов, В.В. Стрижелецкий // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2018. – Т. 20, № 4. – С. 310-318.
11. Дмитриева, Н. В. Глава 2.3. Нозокомиальные инфекции: проблема нарастающей резистентности грамотрицательных микроорганизмов / Н.В. Дмитриева, З.В. Григорьевская, И.Н. Петухова, Е.В. Кулага // Сепсис: избранные вопросы диагностики и лечения. – 2018. – С. 93-133.
12. Коза, Н. М. Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи. Эпидемиология и профилактика (обзорная лекция) / Н. М. Коза // Пермский медицинский журнал. – 2013. – Т. 30, № 4. – С. 135-143.
13. Миронов, А. Ю. Биоплёнки: Справочник бактериолога / А. Ю. Миронов, И. А. Шепелин. – М.: ООО «Типография-Копиринг», 2021. - 169 с. - ISBN 978-5-6044247-1-1.
14. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология: Учебник для студентов медицинских вузов / Под. ред. А.А. Воробьева. - 3-е издание, исправленное. - М.: Издательство «Медицинское информационное агентство», 2022. - 704 с. - ISBN 978-5-9986-0478-2.
15. Онищенко, Г.Г. Национальная Концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (утв. главным государственным санитарным

врачом РФ 6 ноября 2011 г.)

<http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70000121/#ixzz31Obdk4MV>. – 2011.

16. Прикладная медицинская статистика : учебное пособие / В.М. Зайцев, В.Г. Лифляндский, В.И. Маринкин. – Санкт-Петербург : ООО «Издательство Фолиант», 2006. – 432 с.

17. Программа СКАТ (стратегия контроля антимикробной терапии) при оказании стационарной медицинской помощи. Методические рекомендации для лечебно-профилактических учреждений Москвы / С.В. Яковлев, М.В. Журавлева, Д.Н. Проценко, В.Б. Белобородов, Н.И. Брико, Е.Б. Брусина, В.Г. Гусаров, Е.В. Елисеева, М.Н. Замятин, С.К. Зырянов, В.Г. Кукес, Д.А. Попов, С.В. Сидоренко, М.П. Суворова // *Consilium Medicum*. – 2017. – Т. 19, № 7-1. – С. 15-51.

18. Руководство по медицинской микробиологии: Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика. Учебное пособие для системы послевузовского профессионального образования врачей. / под ред. А. С. Лабинской, Н. Н. Костюковой - М.: ООО «Издательство «БИНОМ. Лаборатория знаний», 2020. - 752 с. - (Оппортунистические инфекции; Том 1: Оппортунистические инфекции: возбудители и этиологическая диагностика). - ISBN 978-5-9518-0536-2.

19. Сомова, Л.М. Гетероморфизм клеточной персистенции возбудителей сапронозов в различных условиях среды обитания / Л.М. Сомова, Б.Г. Андрюков, И.Н. Ляпун // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2020. – № 1. – С. 69-78.

20. Тикунова, Н.В. Фаговый дисплей на основе нитчатых бактериофагов: применение для отбора рекомбинантных антител / Н.В. Тикунова, В.В. Морозова // *Acta Naturae* (русскаяязычная версия). – 2009. – Т. 1, № 3. – С. 22-31.

21. Трухачева, Н.В. Математическая статистика в медикобиологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н.В. Трухачева. – Москва: Гэотар-медиа, 2013. – 384 с.

22. Филиппова, А.А. Экспрессия генов бета-лактамаз у бактерий,

характеризующихся множественной устойчивостью к антибактериальным препаратам / А.А. Филиппова, М.Ю. Рубцова, М. М. Уляшова, Н. К. Фурсова // Бактериология. – 2020. – Т. 5, № 3. – С. 34-46.

23. Частная медицинская микробиология с техникой микробиологических исследований: Учебное пособие для СПО / под ред. А. С. Лабинской, А. С. Ещиной, Л. П. Блинковой - 3-е издание, стереотипное. - Санкт-Петербург: Издательство «Лань», 2020. - 608 с. - ISBN 978-5-8114-5145-6.

24. Шкарин, В. В. Концепция многоуровневой системы эпидемиологического надзора за госпитальными инфекциями. / В.В. Шкарин, О.В. Ковалишена // Медицинский альманах. – 2009. - № 2 (7). - С. 14–21.

25. Шкарин, В.В. Современные представления о механизмах устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам / В.В. Шкарин, А.С. Благоданова, О.В. Ковалишена // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. - 2011. - № 3. - С. 48 – 53.

26. Aarestrup, F.M. The livestock reservoir for antimicrobial resistance: a personal view on changing patterns of risks, effects of interventions and the way forward / F.M. Aarestrup // Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences. – 2015. – V. 370, № 1670. – P. 20140085.

27. Adhya, S. Therapeutic and prophylactic applications of bacteriophage components in modern medicine / S. Adhya, C. R. Merrill, B. Biswas // Cold Spring Harbor perspectives in medicine. – 2014. – V. 4, № 1. – a012518.

28. Aghebati-Maleki, A. The Application of Next Generation Sequencing in Phage Display: A Short Review / A. Aghebati-Maleki, B. Baradaran, K. Hajiasgharzadeh, B. Bakhshinejad, L. Aghebati-Maleki // ImmunoAnalysis. – 2021. – V. 1, № 1. – P. 7.

29. Al-Tawfiq, J.A. Healthcare associated infections (HAI) perspectives / J.A. Al-Tawfiq, P.A. Tambyah // Journal of infection and public health. – 2014. – V. 7, № 4. – P. 339-344.

30. Aleshkin, A.V., Rubalsky, E.O., inventors; Bphage, Limited Liability Company, assignee. Bacteriophage strains, compositions and related methods. Patent

WO/2016/003307, PCT/RU2014/000483. 2016 Jan 7.

31. Aliakbar Ahovan, Z. Bacteriophage based biosensors: trends, outcomes and challenges / Z. Aliakbar Ahovan, A. Hashemi, L.M. De Plano, M. Gholipourmalekabadi, A. Seifalian // *Nanomaterials*. – 2020. – V. 10, № 3. – P. 501
32. Ali, M. Magnesium-based composites and alloys for medical applications: A review of mechanical and corrosion properties / M. Ali, M. A. Hussein, N. Al-Aqeeli // *Journal of Alloys and Compounds*. – 2019. – V. 792. – P. 1162-1190.
33. Álvarez, B. Bacteriophage-based bacterial wilt biocontrol for an environmentally sustainable agriculture / B. Álvarez, E. G. Biosca // *Frontiers in plant science*. – 2017. – V. 8. – P. 1218.
34. An, R. Adhesion and friction forces in biofouling attachments to nanotube-and PEG-patterned TiO₂ surfaces / R. An, Y. Dong, J. Zhu, C. Rao // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. – 2017. – V. 159. – P. 108-117.
35. Antunes, L. C. S. Deciphering the multifactorial nature of *Acinetobacter baumannii* pathogenicity / L.C.S. Antunes, F. Imperi, A. Carattoli, P. Visca // *PloS one*. – 2011. – V. 6, № 8. – e22674.
36. Apisarnthanarak, A. Infection prevention and control in Asia: current evidence and future milestones / A. Apisarnthanarak, L.M. Mundy, T. Tantawichien, A. Leelarasamee // *Clinical Infectious Diseases*. – 2017. – V. 64, № suppl_2. – P. S49-S50.
37. Aritonang, H.F. Synthesis of platinum nanoparticles from K₂PtCl₄ solution using bacterial cellulose matrix / H.F. Aritonang, D. Onggo, C. Ciptati, C.L. Radiman // *Journal of Nanoparticles*. – 2014. – V. 2014. – P. 1-6.
38. Aslam, B. Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis / B. Aslam, W. Wang, M.I. Arshad, M. Khurshid, S. Muzammil, M.H. Rasool, M.A. Nisar, R.F. Alvi, M.A. Aslam, M.U. Qamar, M.K.F. Salamat, Z. Baloch // *Infection and drug resistance*. – 2018. – V. 11. – P. 1645.
39. Azam, M.W. Updates on the pathogenicity status of *Pseudomonas aeruginosa* / M.W. Azam, A.U. Khan // *Drug discovery today*. – 2019. – V. 24, № 1. – P. 350-359.
40. Bakhshinejad, B. Phage display: development of nanocarriers for targeted drug

delivery to the brain / B. Bakhshinejad, M. Karimi, M. Khalaj-Kondori // *Neural regeneration research*. – 2015. – V. 10, № 6. – P. 862.

41. Baldwin, D., Summer, N.S., inventors; Dow Global Technologies, Limited Liability Company, Phage Biocontrol Res, Limited Liability Company, assignee. Prevention and remediation of petroleum reservoir souring and corrosion by treatment with virulent bacteriophage. United States patent US 8,168,419 B2. 2012 May 01.

42. Barbier, F. Hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia: recent advances in epidemiology and management / F. Barbier, A. Andremont, M. Wolff, L. Bouadma // *Current opinion in pulmonary medicine*. – 2013. – V. 19, № 3. – P. 216-228.

43. Bassetti, M. Antimicrobial resistance in the next 30 years, humankind, bugs and drugs: a visionary approach / M. Bassetti, G. Poulakou, E. Ruppe, E. Bouza, S. J. Van Hal, A. Brink // *Intensive care medicine*. - 2017. - V. 43, № 10. – P. 1464-1475.

44. Baugh, S. Inhibition of multidrug efflux as a strategy to prevent biofilm formation / S. Baugh, C. R. Phillips, A. S. Ekanayaka, L. J. V. Piddock, M. A. Webber // *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. - 2014. - V. 69, № 3. - P. 673-681.

45. Berne, C. Adhesins involved in attachment to abiotic surfaces by Gram-Negative bacteria / C. Berne, A. Ducret, G.G. Hardy, Y.V. Brun // *Microbial Biofilms*. – 2015. – P. 163-199.

46. Boinovich, L. B. Cation capture and overcharging of a hydrophobized quartz surface in concentrated potassium chloride solutions / L.B. Boinovich, V.D. Sobolev, K.I. Maslakov, A.G. Domantovsky, I.P. Sergeeva, A.M. Emelyanenko // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2018. – V. 537. – P. 76-84.

47. Boinovich, L. B. Effective antibacterial nanotextured surfaces based on extreme wettability and bacteriophage seeding / L.B. Boinovich, E.B. Modin, A.V. Aleshkin, K.A. Emelyanenko, E.R. Zulkarneev, I.A. Kiseleva, A.L. Vasiliev, A.M. Emelyanenko // *ACS Applied Nano Materials*. – 2018. – V. 1, № 3. – P. 1348-1359.

48. Boinovich, L. B. Pulsed laser induced triple layer copper oxide structure for durable polyfunctionality of superhydrophobic coatings / L.B. Boinovich, K.A. Emelyanenko,

- A.G. Domantovsky, E.V. Chulkova, A.A. Shiryaev, A.M. Emelyanenko // *Advanced Materials Interfaces*. – 2018. – V. 5, № 21. – P. 1801099.
49. Boinovich, L. B. The development of coatings that give superhydrophobic properties to the surface of silicone rubber / L.B. Boinovich, A.M. Emel'yanenko, A.M. Muzafarov, A.M. Myshkovskii, A.S. Pashinin, A.Yu. Tsivadze, D.I. Yarova // *Nanotechnologies in Russia*. – 2008. – V. 3, № 9. – P. 587-592.
50. Boinovich, L.B. Long-range surface forces and their role in the progress / L.B. Boinovich // *Russian Chemical Reviews*. – 2007. – V. 76, № 5. – P. 471-488.
51. Boinovich, L.B. The behaviour of fluoro-and hydrocarbon surfactants used for fabrication of superhydrophobic coatings at solid/water interface / L.B. Boinovich, A.M. Emelyanenko // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2015. – V. 481. – P. 167-175.
52. Boinovich, L. A wetting experiment as a tool to study the physicochemical processes accompanying the contact of hydrophobic and superhydrophobic materials with aqueous media / L. Boinovich, A. Emelyanenko // *Advances in colloid and interface science*. – 2012. – V. 179. – P. 133-141.
53. Boinovich, L. Analysis of long-term durability of superhydrophobic properties under continuous contact with water / L. Boinovich, A.M. Emelyanenko, A.S. Pashinin // *ACS applied materials & interfaces*. – 2010. – V. 2, № 6. – P. 1754-1758.
54. Bragg, R. Bacterial resistance to quaternary ammonium compounds (QAC) disinfectants / R. Bragg, A. Jansen, M. Coetzee, W. van der Westhuizen, C. Boucher // *Infectious Diseases and Nanomedicine II*. Springer, New Delhi. – 2014. – P. 1-13.
55. Bragg, R. R. Potential treatment options in a post-antibiotic era / R.R. Bragg, C.M. Meyburgh, J.Y. Lee, M. Coetzee // *Infectious Diseases and Nanomedicine III*. – 2018. – P. 51-61.
56. Briscoe, W. H. Depletion forces between particles immersed in nanofluids / W. H. Briscoe // *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. – 2015. – V. 20, № 1. – P. 46-53.
57. Bruzaud, J. The design of superhydrophobic stainless steel surfaces by controlling

nanostructures: A key parameter to reduce the implantation of pathogenic bacteria / J. Bruzaud, J. Tarrade, E. Celia, T. Darmanin, E. Taffin de Givenchy, F. Guittard, J.M. Herry, M. Guilbaud, M.N. Bellon-Fontaine // *Materials Science and Engineering: C*. - 2017. - V. 73. - P. 40-47.

58. Buffet-Bataillon, S. Emergence of resistance to antibacterial agents: the role of quaternary ammonium compounds - a critical review / S. Buffet-Bataillon, P. Tattevin, M. Bonnaure-Mallet, A. Jolivet-Gougeon // *International journal of antimicrobial agents*. – 2012. – V. 39, № 5. – P. 381-389.

59. Camacho-Flores, B. A. Copper: synthesis techniques in nanoscale and powerful application as an antimicrobial agent / B.A. Camacho-Flores, O. Martínez-Álvarez, M.C. Arenas-Arrocena, R. Garcia-Contreras, L. Argueta-Figueroa, J. de la Fuente-Hernández, L.S. Acosta-Torres // *Journal of Nanomaterials*. – 2015. – V. 2015.

60. Cao, Y. Nanostructured titanium surfaces exhibit recalcitrance towards *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation / Y. Cao, B. Su, S. Chinnaraj, S. Jana, L. Bowen, S. Charlton, P. Duan, N.S. Jakubovics, J. Chen // *Scientific reports*. – 2018. – V. 8, № 1. – P. 1-13.

61. Casey, A. Genetics and Genomics of Bacteriophages / A. Casey, A. Coffey, O. McAuliffe // *Journal: Bacteriophages*. – 2017. – P. 1-26.

62. Cassini, A. Burden of six healthcare-associated infections on European population health: estimating incidence-based disability-adjusted life years through a population prevalence-based modelling study / A. Cassini, D. Plachouras, T. Eckmanns, M. Abu Sin, H.P. Blank, T. Ducombe, S. Haller, T. Harder, A. Klingeberg, M. Sixtensson, E. Velasco, B. Weiß, P. Kramarz, D.L. Monnet, M.E. Kretzschmar, C. Suetens // *PLoS medicine*. – 2016. – V. 13, № 10. – e1002150

63. Cassini, A. Impact of infectious diseases on population health using incidence-based disability-adjusted life years (DALYs): results from the Burden of Communicable Diseases in Europe study, European Union and European Economic Area countries, 2009 to 2013 / A. Cassini, E. Colzani, A. Pini, M.J.J. Mangen, D. Plass, S. McDonald, G. Maringhini, A. van Lier, J.A. Haagsma, A.H. Havelaar, P. Kramarz, M.E.

- Kretzschmar // *Eurosurveillance*. – 2018. – V. 23, № 16. – P. 17-00454
64. Chandrangsu, P. Metal homeostasis and resistance in bacteria / P. Chandrangsu, C. Rensing, J.D. Helmann // *Nature Reviews Microbiology*. – 2017. – V. 15, № 6. – P. 338.
65. Chatterjee, M. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and alternative therapeutic options / M. Chatterjee, C.P. Anju, L. Biswas, V.A. Kumar, C.G. Mohan, R. Biswas // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2016. – V. 306, № 1. – P. 48-58.
66. Chaudhari, A.A. Multifunctionally modified superhydrophobic aluminum and fabric surfaces with reduced gram-negative and gram-positive bacterial attachment: a possible approach for self-cleaning aircraft and crew cabin surfaces / A.A. Chaudhari, J. Coppage-Gross, K.K. Rangan, V.C. Onyilo, T. S. Sudarshan, S.R. Singh, S.R. Pillai // *Materials and Manufacturing Processes*. – 2016. – V. 31, № 9. – P. 1156-1161.
67. Chen, Y. A point-prevalence survey of healthcare-associated infection in fifty-two Chinese hospitals / Y. Chen, J.Y. Zhao, X. Shan, X.L. Han, S.G. Tian, F.Y. Chen, X.T. Su, Y.S. Sun, L.Y. Huang, L. Han // *Journal of Hospital Infection*. - 2017. - V. 95, № 1. - P. 105-111.
68. Chitsaz, M. The role played by drug efflux pumps in bacterial multidrug resistance / M. Chitsaz, M.H. Brown // *Essays in biochemistry*. - 2017. - V. 61, № 1. – P. 127-139.
69. Cigana, C. Efficacy of the novel antibiotic POL7001 in preclinical models of *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia / C. Cigana, F. Bernardini, M. Facchini, B. Alcalá-Franco, C. Riva, I. De Fino, A. Rossi, S. Ranucci, P. Misson, E. Chevalier, M. Brodmann, M. Schmitt, A. Wach, G.E. Dale, D. Obrecht, A. Bragonzi // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2016. – V. 60, № 8. – P. 4991-5000.
70. Cong, Y. Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* infections: A review of case updating and clinical features / Y. Cong, S. Yang, X. Rao // *Journal of Advanced Research*. – 2020. – V. 21. – P. 169-176.
71. Czaplewski, L. Alternatives to antibiotics—a pipeline portfolio review / L. Czaplewski, R. Bax, M. Clokie, M. Dawson, H. Fairhead, V.A. Fischetti, S. Foster, B.F.

Gilmore, R.E.W. Hancock, D. Harper, I.R. Henderson, K. Hilpert, B.V. Jones, A. Kadioglu, D. Knowles, S. Ólafsdóttir, D. Payne, S. Projan, S. Shaunak, J. Silverman, C.M. Thomas, T.J. Trust, P. Warn, J.H. Rex // *The Lancet infectious diseases*. – 2016. – V. 16, № 2. – P. 239-251.

72. D'Andrea, M.M. CTX-M-type β -lactamases: a successful story of antibiotic resistance / M.M. D'Andrea, F. Arena, L. Pallecchi, G.M. Rossolini // *International Journal of Medical Microbiology*. – 2013. – V. 303, № 6-7. – P. 305-317.

73. D'Costa, V. M. Antibiotic resistance is ancient / V.M. D'Costa, C.E. King, L. Kalan, M. Morar, W.W.L. Sung, C. Schwarz, D. Froese, G. Zazula, F. Calmels, R. Debruyne, G.B. Golding, H.N. Poinar, G.D. Wright // *Nature*. – 2011. – V. 477, № 7365. – P. 457-461.

74. Dąbrowska, K. Immunogenicity studies of proteins forming the T4 phage head surface / K. Dąbrowska, P. Miernikiewicz, A. Piotrowicz, K. Hodyra, B. Owczarek, D. Lecion, Z. Kaźmierczak, A. Letarov, A. Górski // *Journal of virology*. – 2014. – V. 88, № 21. – P. 12551-12557.

75. Davies, S.C. Annual Report of the Chief Medical Officer: infection and the rise of antimicrobial resistance / S.C. Davies, T. Fowler, J. Watson, D.M. Livermore, D. Walker // *The Lancet*. - 2013. - V. 381, № 9878. - P. 1606-1609.

76. Davis, M.A. Recent emergence of *Escherichia coli* with cephalosporin resistance conferred by bla CTX-M on Washington State dairy farms / M.A. Davis, W.M. Sisco, L.P. Jones, D.A. Moore, S. Ahmed, D.M. Short, T.E. Besser // *Applied and environmental microbiology*. – 2015. – V. 81, № 13. – P. 4403-4410.

77. De Oliveira, D. M. P. Antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens / D.M.P. De Oliveira, B.M. Forde, T.J. Kidd, P.N.A. Harris, M.A. Schembri, S.A. Beatson, D.L. Paterson, M.J. Walker // *Clinical microbiology reviews*. – 2020. – V. 33, № 3. – e00181-19.

78. Debarbieux, L. A bacteriophage journey at the European Medicines Agency / L. Debarbieux, J.P. Pirnay, G. Verbeken, D. De Vos, M. Merabishvili, I. Huys, O. Patey, D. Schoonjans, M. Vaneechoutte, M. Zizi, C. Rohde // *FEMS microbiology letters*. –

2016. – V. 363, № 2. – fnv225.

79. Dexter, C. Community-acquired *Acinetobacter baumannii*: clinical characteristics, epidemiology and pathogenesis / C. Dexter, G.L. Murray, I.T. Paulsen, A.Y. Peleg // Expert review of anti-infective therapy. – 2015. – V. 13, № 5. – P. 567-573.

80. Dickey, S.W. Different drugs for bad bugs: antivirulence strategies in the age of antibiotic resistance / S.W. Dickey, G.Y.C. Cheung, M. Otto // Nature Reviews Drug Discovery. – 2017. – V. 16, № 7. – P. 457.

81. Din, M.I. Synthesis, characterization, and applications of copper nanoparticles / M.I. Din, R. Rehan // Analytical Letters. – 2017. – V. 50, № 1. – P. 50-62.

82. Donlan, R.M., Lehman, S.M., Garcia A.J., inventors; CDC/The Government of United States of America being represented by Secretary of Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention, Georgia Tech Research Corporation, assignee. Controlled covalent attachment of bioactive bacteriophage for regulating biofilm development. United States patent US20140199360A1. – 2016 June 28.

83. Dou, X.Q. Bioinspired hierarchical surface structures with tunable wettability for regulating bacteria adhesion / X.Q. Dou, D. Zhang, C. Feng, L. Jiang // ACS nano. - 2015. - V. 9, № 11. - P. 10664-10672.

84. Drelich, J. Hydrophilic and superhydrophilic surfaces and materials / J. Drelich, E. Chibowski, D.D. Meng, K. Terpilowski // Soft Matter. – 2011. – V. 7, № 21. – P. 9804-9828.

85. Duffy, L.L. Investigation into the antibacterial activity of silver, zinc oxide and copper oxide nanoparticles against poultry-relevant isolates of *Salmonella* and *Campylobacter* / L.L. Duffy, M.J. Osmond-McLeod, J. Judyc, T. King // Food Control. – 2018. – V. 92. – P. 293-300.

86. Dumas, A. Palladium: a future key player in the nanomedical field? / A. Dumas, P. Couvreur // Chemical Science. – 2015. – V. 6, № 4. – P. 2153-2157.

87. Emel'yanenko, A.M. Analysis of wetting as an efficient method for studying the characteristics of coatings and surfaces and the processes that occur on them: A review /

- A.M. Emel'yanenko, L.B. Boinovich // *Inorganic Materials*. - 2011. - V. 47, № 15. - P. 1667-1675.
88. Emelyanenko, A.M. Deep undercooling of aqueous droplets on a superhydrophobic surface: The specific role of cation hydration. / A.M. Emelyanenko, K.A. Emelyanenko, L.B. Boinovich // *The journal of physical chemistry letters*. – 2020. – V. 11, № 8. – P. 3058-3062.
89. Esteves, N.C. Flagellotropic Bacteriophages: Opportunities and Challenges for Antimicrobial Applications / N.C. Esteves, B.E. Scharf // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2022. – V. 23, № 13. – P. 7084.
90. Fair, R.J. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century / R.J. Fair, Y. Tor // *Perspectives in medicinal chemistry*. – 2014. – V. 6. – PMC. S14459.
91. Falde, E.J. Superhydrophobic materials for biomedical applications / E.J. Falde, S.T. Yohe, Y.L. Colson, M.W. Grinstaff // *Biomaterials*. – 2016. – V. 104. – P. 87-103.
92. Farr, R. Phage-based nanomaterials for biomedical applications / R. Farr, D.S. Choi, S.W. Lee // *Acta biomaterialia*. – 2014. – V. 10, № 4. – P. 1741-1750.
93. Fateh, A. Review of corrosive environments for copper and its corrosion inhibitors / A. Fateh, M. Aliofkhazraei, A.R. Rezvanian // *Arabian journal of Chemistry*. – 2020. – V. 13, № 1. – P. 481-544.
94. Fazeli, H. *Pseudomonas aeruginosa* infections in patients, hospital means, and personnel's specimens / H. Fazeli, R. Akbari, S. Moghim, T. Narimani, M.R. Arabestani, A.R. Ghoddousi // *Journal of research in medical sciences: the official journal of Isfahan University of Medical Sciences*. – 2012. – V. 17, № 4. – P. 332.
95. Feng, H. Systematic study of inherent antibacterial properties of magnesium-based biomaterials / H. Feng, G. Wang, W. Jin, X. Zhang, Y. Huang, A. Gao, H. Wu, G. Wu, P.K. Chu // *ACS Applied Materials & Interfaces*. – 2016. – V. 8, № 15. – P. 9662-9673.
96. Founou, R.C. Clinical and economic impact of antibiotic resistance in developing countries: a systematic review and meta-analysis / R.C. Founou, L.L. Founou, S.Y. Essack // *PloS one*. – 2017. – V. 12, № 12. – e0189621.
97. Fu, Y. Robust liquid-repellent coatings based on polymer nanoparticles with

- excellent self-cleaning and antibacterial performances / Y. Fu, J. Jiang, Q. Zhang, X. Zhana, F. Chena // *Journal of Materials Chemistry A*. – 2016. – V. 5, № 1. – P. 275-284.
98. Gawande, M.B. Cu and Cu-based nanoparticles: synthesis and applications in catalysis / M.B. Gawande, A. Goswami, F.X. Felpin, T. Asefa, X. Huang, R. Silva, X. Zou, R. Zboril, R.S. Varma // *Chemical reviews*. – 2016. – V. 116, № 6. – P. 3722-3811.
99. Giamarellou, H., Karaiskos, I. Current and Potential Therapeutic Options for Infections Caused by Difficult-to-Treat and Pandrug Resistant Gram-Negative Bacteria in Critically Ill Patients / H. Giamarellou, I. Karaiskos // *Antibiotics*. – 2022. – V. 11, № 8. – P. 1009.
100. Giammanco, A. Global assessment of the activity of tigecycline against multidrug-resistant Gram-negative pathogens between 2004 and 2014 as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial / A. Giammanco, C. Calà, T. Fasciana, M.J. Dowzicky // *Msphere*. – 2017. – V. 2, № 1. – e00310-16.
101. Giannouli, M. Virulence-related traits of epidemic *Acinetobacter baumannii* strains belonging to the international clonal lineages I-III and to the emerging genotypes ST25 and ST78 / M. Giannouli, L.C.S. Antunes, V. Marchetti, M. Triassi, P. Visca, R. Zarrilli // *BMC infectious diseases*. - 2013. - V. 13, № 1. - P. 1-11.
102. Gnanadhas, D.P. Biocides–resistance, cross-resistance mechanisms and assessment / D.P. Gnanadhas, S.A. Marathe, D. Chakravorty // *Expert opinion on investigational drugs*. – 2013. – V. 22, № 2. – P. 191-206.
103. Golkar, Z. Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis / Z. Golkar, O. Bagasra, D. G. Pace // *The Journal of Infection in Developing Countries*. – 2014. – V. 8, № 02. – P. 129-136.
104. Gordillo Altamirano, F.L. Phage therapy in the postantibiotic era / F.L. Gordillo Altamirano, J.J. Barr // *Clinical microbiology reviews*. – 2019. – V. 32, № 2. – e00066-18.
105. Górski, A. Phage therapy: combating infections with potential for evolving from merely a treatment for complications to targeting diseases / A. Górski, R.

Międzybrodzki, B. Weber-Dąbrowska, W. Fortuna, S. Letkiewicz, P. Rogóż, E. Jończyk-Matysiak, K. Dąbrowska, J. Majewska, J. Borysowski // *Frontiers in microbiology*. – 2016. – V. 7. – P. 1515.

106. Ghosh, C. Alternatives to conventional antibiotics in the era of antimicrobial resistance / C. Ghosh, P. Sarkar, R. Issa, J. Haldar // *Trends in microbiology*. – 2019. – V. 27, № 4. – P. 323-338.

107. Gratia, A. Des relations numeriques entre bacteries lysogenes et particules de bacteriophage / A. Gratia // *Annales de l'Institut Pasteur*. – Masson Publishing, France. – 1936. – V. 57, № 1936. – P. 652-676.

108. Hajipour, M.J. Antibacterial properties of nanoparticles / M.J. Hajipour, K.M. Fromm, A.A. Ashkarran, D.J. de Aberasturi, I.R. de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W.J. Parak, M. Mahmoudi // *Trends in biotechnology*. – 2012. – V. 30, № 10. – P. 499-511.

109. Hall, C.W. Molecular mechanisms of biofilm-based antibiotic resistance and tolerance in pathogenic bacteria / C.W. Hall, T.F. Mah // *FEMS microbiology reviews*. – 2017. – V. 41, № 3. – P. 276-301.

110. Hamilton, W.A. Sulphate-reducing bacteria and anaerobic corrosion / W.A. Hamilton // *Annual review of microbiology*. – 1985. – V. 39, № 1. – P. 195-217.

111. Hansson, P.M. Frictional forces between hydrophilic and hydrophobic particle coated nanostructured surfaces / P.M. Hansson, P.M. Claesson, A. Swerin, W.H. Briscoe, J. Schoelkopf, P.A.C. Ganede, E. Thormann // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2013. – V. 15, № 41. – P. 17893-17902.

112. Haq, I.U. Bacteriophages and their implications on future biotechnology: a review / I.U. Haq, W.N. Chaudhry, M.N. Akhtar, S. Andleeb, I. Qadri // *Virology journal*. – 2012. – V. 9, № 1. – P. 1-8.

113. Haque, M. Health care-associated infections—an overview / M. Haque, M. Sartelli, J. McKimm, M. Abu Bakar // *Infection and drug resistance*. – 2018. – V. 11. – P. 2321.

114. Harada, L.K. Biotechnological applications of bacteriophages: State of the art / L.K. Harada, E.C. Silva, W.F. Campos, F.S. Del Fiol, M. Vila, K. Dąbrowska, V.N.

- Krylov, V.M. Balcão // Microbiological research. – 2018. – V. 212. – P. 38-58.
115. Hasan, J. Engineering a nanostructured “super surface” with superhydrophobic and superkilling properties / J. Hasan, S. Raj, L. Yadav, K. Chatterjee // RSC advances. – 2015. – V. 5, № 56. – P. 44953-44959.
116. Hasan, J. Multi-scale surface topography to minimize adherence and viability of nosocomial drug-resistant bacteria / J. Hasan, S. Jain, R. Padmarajan, S. Purighalla, V.K. Sambandamurthy, K. Chatterjee // Materials & design. - 2018. - V. 140. - P. 332-344.
117. Hasan, J. Recent advances in engineering topography mediated antibacterial surfaces / J. Hasan, K. Chatterjee // Nanoscale. – 2015. – V. 7, № 38. – P. 15568-15575.
118. Hasan, J. Antibacterial surfaces: the quest for a new generation of biomaterials / J. Hasan, R.J. Crawford, E.P. Ivanova // Trends in biotechnology. - 2013. - V. 31, № 5. - P. 295-304.
119. Hassanpour, P. Biomedical applications of aluminium oxide nanoparticles / P. Hassanpour, Y. Panahi, A. Ebrahimi-Kalan, A. Akbarzadeh, S. Davaran, A.N. Nasibova, R. Khalilov, T. Kavetsky // Micro & Nano Letters. – 2018. – V. 13, № 9. – P. 1227-1231.
120. He, X.F. A novel method to detect bacterial resistance to disinfectants / X.F. He, H.J. Zhang, J.G. Cao, F. Liu, J.K. Wang, W.J. Ma, W. Yin // Genes & diseases. – 2017. – V. 4, № 3. – P. 163-169.
121. Hizal, F. Nanoengineered superhydrophobic surfaces of aluminum with extremely low bacterial adhesivity / F. Hizal, N. Rungraeng, J. Lee, S. Jun, H.J. Busscher, H.C. van der Mei, C.H. Choi // ACS applied materials & interfaces. – 2017. – V. 9, № 13. – P. 12118-12129.
122. Holt, K.E. Genomic analysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobial resistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health / K.E. Holt, H. Wertheim, R.N. Zadoks, S. Baker, C.A. Whitehouse, D. Dance, A. Jenney, T.R. Connor, L.Y. Hsu, J. Severin, S. Brisse, H. Cao, J. Wilksch, C. Gorrie, M.B. Schultz, D.J. Edwards, K.V. Nguyen, T.V. Nguyen, T.T. Dao, M. Mensink, V.L.

Minh, N.T. Khanh Nhu, C. Schultsz, K. Kuntaman, P.N. Newton, C.E. Moore, R.A. Strugnell, N.R. Thomson // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. – 2015. – V. 112, № 27. – E3574-E3581.

123. Hosseinidoust, Z. Going viral: Designing bioactive surfaces with bacteriophage / Z. Hosseinidoust, A.L.J. Olsson, N. Tufenkji // *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. - 2014. - V. 124. - P. 2-16.

124. Huemer, M. Antibiotic resistance and persistence - Implications for human health and treatment perspectives / M. Huemer, S.M. Shambat, S.D. Brugger, A.S. Zinkernagel // *EMBO reports*. - 2020. - V. 21, № 12. - e51034.

125. Hwang, G.B. Superhydrophobic and white light-activated bactericidal surface through a simple coating / G.B. Hwang, A. Patir, E. Allan, S.P. Nair, I.P. Parkin // *ACS applied materials & interfaces*. – 2017. – V. 9, № 34. – P. 29002-29009.

126. Inesi, G. Molecular features of copper binding proteins involved in copper homeostasis / G. Inesi // *IUBMB life*. – 2017. – V. 69, № 4. – P. 211-217.

127. International Organization for Standardization. ISO 22196:2011. Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces. *Plastics-Measurement of antibacterial activity on plastics surfaces: International Standard; 2011*

128. Jaggesar, A. Bio-mimicking nano and micro-structured surface fabrication for antibacterial properties in medical implants / A. Jaggesar, H. Shahali, A. Mathew, P.K.D.V. Yarlagadda // *Journal of nanobiotechnology*. – 2017. – V. 15, № 1. – P. 64.

129. Jenkins, J. Antibacterial effects of nanopillar surfaces are mediated by cell impedance, penetration and induction of oxidative stress / J. Jenkins, J. Mantell, C. Neal, A. Gholinia, P. Verkade, A.H. Nobbs, B. Su // *Nature communications*. – 2020. – V. 11, № 1. – P. 1-14.

130. Jhamb, S. Biopreservation of food using bacteriocins, bacteriophages and endolysins / S. Jhamb // *The Bombay Technologist*. – 2014. – V. 64, № 1. – P. 9-21.

131. Jiao, Y. Quaternary ammonium-based biomedical materials: State-of-the-art, toxicological aspects and antimicrobial resistance / Y. Jiao, L. Niu, S. Ma, J. Li, F.R. Tay, J. Chena // *Progress in Polymer Science*. – 2017. – V. 71. – P. 53-90.

132. Kadri, S.S. Key takeaways from the US CDC's 2019 antibiotic resistance threats report for frontline providers / S. S. Kadri // *Critical care medicine*. – 2020.
133. Karakonstantis, S. Systematic review of antimicrobial combination options for pandrug-resistant *Acinetobacter baumannii* / S. Karakonstantis, P. Ioannou, G. Samonis, D.P. Kofteridis // *Antibiotics*. – 2021. – V. 10, № 11. – P. 1344.
134. Karimi, M. Bacteriophages and phage-inspired nanocarriers for targeted delivery of therapeutic cargos / M. Karimi, H. Mirshekari, S.M.M. Basri, S. Bahrami, M. Moghoofei, M.R. Hamblin // *Advanced drug delivery reviews*. – 2016. – V. 106. – P. 45-62.
135. Kayhan, S.M. Experimental and numerical investigations for mechanical and microstructural characterization of micro-manufactured AZ91D magnesium alloy disks for biomedical applications / S.M. Kayhan, A. Tahmasebifar, M. Koç, Y. Usta, A. Tezcaner, Z. Evis // *Materials & Design*. – 2016. – V. 93. – P. 397-408.
136. Kazantsev, S.O. Zeta potential change of neuro-2a tumor cells after exposure to alumina nanoparticles / S.O. Kazantsev, A.N. Fomenko, M.S. Korovin // *AIP Conference Proceedings*. – AIP Publishing LLC, 2016. – V. 1760, № 1. – P. 020025.
137. Khan, H.A. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance / H.A. Khan, F.K. Baig, R. Mehboob // *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. – 2017. – V. 7, № 5. – P. 478-482.
138. Khan, S. Relationship between antibiotic-and disinfectant-resistance profiles in bacteria harvested from tap water / S. Khan, T.K. Beattie, C.W. Knapp // *Chemosphere*. – 2016. – V. 152. – P. 132-141.
139. Kim, M. Genomic and transcriptomic insights into how bacteria withstand high concentrations of benzalkonium chloride biocides / M. Kim, J.K. Hatt, M.R. Weigand, R. Krishnan, S.G. Pavlostathis, K.T. Konstantinidis // *Applied and environmental microbiology*. – 2018. – V. 84, № 12. – e00197-18.
140. Kim, M. Widely used benzalkonium chloride disinfectants can promote antibiotic resistance / M. Kim, M.R. Weigand, S. Oh, J.K. Hatt, R. Krishnan, U. Tezel, S.G. Pavlostathis, K.T. Konstantinidis // *Applied and environmental microbiology*. - 2018. -

V. 84, № 17. – e01201-18.

141. Kinsey, C. B. *Pseudomonas aeruginosa* outbreak in a neonatal intensive care unit attributed to hospital tap water / C.B. Kinsey, S. Koirala, B. Solomon, J. Rosenberg, B.F. Robinson, A. Neri, A.L. Halpin, M.J. Arduino, H. Moulton-Meissner, J. Noble-Wang, N. Chea, C.V. Gould // *Infection control & Hospital epidemiology*. – 2017. – V. 38, № 7. – P. 801-808.

142. Köck, R. Systematic literature analysis and review of targeted preventive measures to limit healthcare-associated infections by meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* / R. Kock, K. Becker, B. Cookson, J.E. van Gemert-Pijnen, S. Harbarth, J. Kluytmans, M. Mielke, G. Peters, R.L. Skov, M.J. Struelens, E. Tacconelli, W. Witte, A.W. Friedrich // *Eurosurveillance*. – 2014. – V. 19, № 29. – P. 20860.

143. Kosmulski, M. Compilation of PZC and IEP of sparingly soluble metal oxides and hydroxides from literature / M. Kosmulski // *Advances in colloid and interface science*. – 2009. – V. 152, № 1-2. – P. 14-25.

144. Krasowska, A. How microorganisms use hydrophobicity and what does this mean for human needs? / A. Krasowska, K. Sigler // *Frontiers in cellular and infection microbiology*. – 2014. – V. 4. – P. 112.

145. Krekeler, C. Physical methods for characterization of microbial cell surfaces / C. Krekeler, H. Ziehr, J. Klein // *Experientia*. – 1989. – V. 45, № 11. – P. 1047-1055.

146. Kulakovskaya, T. Inorganic polyphosphates and heavy metal resistance in microorganisms / T. Kulakovskaya // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2018. – V. 34, № 9. – P. 1-8.

147. Kutter, E.M. Re-establishing a place for phage therapy in western medicine / E.M. Kutter, S.J. Kuhl, S.T. Abedon // *Future microbiology*. – 2015. – V. 10, № 5. – P. 685-688.

148. Kyaw, M. H. Healthcare utilization and costs associated with *S. aureus* and *P. aeruginosa* pneumonia in the intensive care unit: a retrospective observational cohort study in a US claims database / M.H. Kyaw, D.M. Kern, S. Zhou, O. Tunceli, H.S. Jafri, J. Falloon // *BMC health services research*. - 2015. - V. 15, № 1. - P. 1-11.

149. Lakshminarayanan, R. Recent advances in the development of antimicrobial nanoparticles for combating resistant pathogens / R. Lakshminarayanan, E. Ye, D.J. Young, Z. Li, X.J. Loh // *Advanced healthcare materials*. – 2018. – V. 7, № 13. – P. 1701400.
150. Lam, S. J. Antimicrobial polymeric nanoparticles / S.J. Lam, E.H.H. Wong, C. Boyer, G.G. Qiao // *Progress in polymer science*. – 2018. – V. 76. – P. 40-64.
151. Lam, S.J. Combating multidrug-resistant Gram-negative bacteria with structurally nanoengineered antimicrobial peptide polymers / S.J. Lam, N.M. O'Brien-Simpson, N. Pantarat, A. Sulistio, E.H.H. Wong, Y.Y. Chen, J.C. Lenzo, J.A. Holden, A. Blencowe, E.C. Reynolds, G.G. Qiao // *Nature microbiology*. – 2016. – V. 1, № 11. – P. 1-11.
152. Law, J.W.F. Rapid methods for the detection of foodborne bacterial pathogens: principles, applications, advantages and limitations / J.W.F. Law, N.S. Ab Mutalib, K.G. Chan, L.H. Lee // *Frontiers in microbiology*. – 2015. – V. 5. – P. 770.
153. Lazary, A. Reduction of healthcare-associated infections in a long-term care brain injury ward by replacing regular linens with biocidal copper oxide impregnated linens / A. Lazary, I. Weinberg, J.J. Vatine, A. Jefidoff, R. Bardenstein, G. Borkow, N. Ohana // *International Journal of Infectious Diseases*. – 2014. – V. 24. – P. 23-29.
154. Lee, E.J. Bioengineered protein-based nanocage for drug delivery / E.J. Lee, N.K. Lee, I.S. Kim // *Advanced drug delivery reviews*. – 2016. – V. 106. – P. 157-171.
155. Lewis, K. New approaches to antimicrobial discovery / K. Lewis // *Biochemical pharmacology*. – 2017. – V. 134. – P. 87-98.
156. Li, Q. Formation of multispecies biofilms and their resistance to disinfectants in food processing environments: a review / Q. Li, L. Liu, A. Guo, X. Zhang, W. Liu, Y. Ruan // *Journal of Food Protection*. – 2021. – V. 84, № 12. – P. 2071-2083.
157. Li, S. A review on special wettability textiles: theoretical models, fabrication technologies and multifunctional applications / S. Li, J. Huang, Z. Chen, G. Chena, Y. Lai // *Journal of Materials Chemistry A*. – 2017. – V. 5, № 1. – P. 31-55.
158. Li, X. Bactericidal mechanism of nanopatterned surfaces / X. Li // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2016. – V. 18, № 2. – P. 1311-1316.

159. Li, X. The nanotipped hairs of gecko skin and biotemplated replicas impair and/or kill pathogenic bacteria with high efficiency / X. Li, G.S. Cheung, G.S. Watson, J.A. Watson, S. Lin, L. Schwarzkopfe, D.W. Green // *Nanoscale*. – 2016. – V. 8, № 45. – P. 18860-18869.
160. Liakopoulos, A. A review of SHV extended-spectrum β -lactamases: neglected yet ubiquitous / A. Liakopoulos, D. Mevius, D. Ceccarelli // *Frontiers in microbiology*. - 2016. - V. 7. - P. 1374.
161. Lietaert, K. Open cellular magnesium alloys for biodegradable orthopaedic implants / K. Lietaert, L. Weber, J. Van Humbeeck, A. Mortensen, J. Luyten, J. Schrooten // *Journal of Magnesium and Alloys*. – 2013. – V. 1, № 4. – P. 303-311.
162. Lima, A.C. Micro-/nano-structured superhydrophobic surfaces in the biomedical field: part I: basic concepts and biomimetic approaches / A.C. Lima, J.F. Mano // *Nanomedicine*. – 2015. – V. 10, № 1. – P. 103-119.
163. Lin, M.F. Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside / M.F. Lin, C.Y. Lan // *World Journal of Clinical Cases: WJCC*. - 2014. - V. 2, № 12. - P. 787.
164. Lin, Z. The role of antibacterial metallic elements in simultaneously improving the corrosion resistance and antibacterial activity of magnesium alloys / Z. Lin, X. Sun, H. Yang // *Materials & Design*. – 2021. – V. 198. – P. 109350.
165. Linklater, D.P. Mechanical inactivation of *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* by titanium substrata with hierarchical surface structures / D.P. Linklater, S.J. Russell, J. Crawford, E.P. Ivanova // *Materialia*. – 2019. – V. 5. – P. 100197.
166. Liu, Y.Y. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study / Y.Y. Liu, Y. Wang, T.R. Walsh, L.X. Yi, R. Zhang, J. Spencer, Y. Doi, G. Tian, B. Dong, X. Huang, L.F. Yu, D. Gu, H. Ren, X. Chen, L. Lv, D. He, H. Zhou, Z. Liang, J.H. Liu, J. Shen // *The Lancet infectious diseases*. – 2016. – V. 16, № 2. – P. 161-168.
167. Liu, Z. Surface-independent one-pot chelation of copper ions onto filtration

- membranes to provide antibacterial properties / Z. Liu, Y. Hu, C. Liuac, Z. Zhou // *Chemical Communications*. – 2016. – V. 52, № 82. – P. 12245-12248.
168. Liu, Z. Sustainable antibiofouling properties of thin film composite forward osmosis membrane with rechargeable silver nanoparticles loading / Z. Liu, Y. Hu // *ACS applied materials & interfaces*. – 2016. – V. 8, № 33. – P. 21666-21673.
169. Liu, X. Micro-alloying with Mn in Zn–Mg alloy for future biodegradable metals application / X. Liu, J. Sun, F. Zhou, Y. Yang, R. Chang, K. Qiu, Z. Pu, L. Li, Y. Zheng // *Materials & Design*. – 2016. – V. 94. – P. 95-104.
170. Lob, S.H. Regional differences and trends in antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter baumannii* / S.H. Lob, D.J. Hoban, D.F. Sahn, R.E. Badal // *International journal of antimicrobial agents*. – 2016. – V. 47, № 4. – P. 317-323.
171. Luque-Agudo, V. The role of magnesium in biomaterials related infections. / V. Luque-Agudo, M.C. Fernández-Calderón, M.A. Pacha-Olivenza, C. Pérez-Giraldo, A.M. Gallardo-Moreno, M.L. González-Martín // *Colloids and surfaces B: Biointerfaces*. – 2020. – V. 191. – P. 110996.
172. Lützenkirchen, J. Zeta-potential measurements of OTS-covered silica samples / J. Lützenkirchen, C. Richter // *Adsorption*. – 2013. – V. 19, № 2. – P. 217-224.
173. Magill, S.S. Changes in prevalence of healthcare-associated infections in US hospitals / S.S. Magill, E. O'Leary, S.J. Janelle, D.L. Thompson, G. Dumyati, J. Nadle, L.E. Wilson, M.A. Kainer, R. Lynfield, S. Greissman, S.M. Ray, Z. Beldavs, C. Gross, W. Bamberg, M. Sievers, C. Concannon, N. Buhr, L. Warnke, M. Maloney, V. Ocampo, J. Brooks, T. Oyewumi, S. Sharmin, K. Richards, J. Rainbow, M. Samper, E.B. Hancock, D. Leaprot, E. Scalise, F. Badrun, R. Phelps, J.R. Edwards // *New England Journal of Medicine*. - 2018. - V. 379, № 18. - P. 1732-1744.
174. Magill, S.S. Multistate point-prevalence survey of health care-associated infections / S.S. Magill, J.R. Edwards, W. Bamberg, Z.G. Beldavs, G. Dumyati, M.A. Kainer, R. Lynfield, M. Maloney, L. McAllister-Hollod, J. Nadle, S.M. Ray, D.L. Thompson, L.E. Wilson, S.K. Fridkin // *New England Journal of Medicine*. – 2014. – V. 370, № 13. – P. 1198-1208.

175. Maheswari, R. U. Structural, morphological, optical and antibacterial properties of pentagon CuO nanoplatelets / R. Maheswari, B.J. Rani, G. Ravi, R. Yuvakkumar, F. Ameen, A. Al-Sabri // *Journal of Sol-Gel Science and Technology*. – 2018. – V. 87, № 3. – P. 515-527.
176. Mairi, A. OXA-48-like carbapenemases producing *Enterobacteriaceae* in different niches / A. Mairi, A. Pantel, A. Sotto, J.P. Lavigne, A. Touati // *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. – 2018. – V. 37, № 4. – P. 587-604.
177. Mandal, P. Effect of topography and chemical treatment on the hydrophobicity and antibacterial activities of micropatterned aluminium surfaces / P. Mandal, A. Shishodia, N. Ali, S. Ghosh, H.S. Arora, H.S. Grewal, S.K. Ghosh // *Surface Topography: Metrology and Properties*. - 2020. - V. 8, № 2. - P. 025017.
178. Manke, A. Mechanisms of nanoparticle-induced oxidative stress and toxicity / A. Manke, L. Wang, Y. Rojanasakul // *BioMed research international*. – 2013. – V. 2013.
179. Mansfeld, F. The corrosion behavior of copper alloys, stainless steels and titanium in seawater / F. Mansfeld, G. Liu, H. Xiao, C. Tsai, B. Little // *Corrosion science*. - 1994. - V. 36, № 12. - P. 2063-2095.
180. Marmur, A. Contact angles and wettability: towards common and accurate terminology / A. Marmur, C. Della, V. Stefano, S. Alidad, A. Jaroslaw, W. Drelich // *Surface Innovations*. – 2017. – V. 5, № 1. – P. 3-8.
181. Martínez, T. ISEcp1-mediated transposition of blaKPC into the chromosome of a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii* from Puerto Rico / T. Martínez, G.J. Vázquez, E.E. Aquino, I. Martínez, I.E. Robledo // *Journal of medical microbiology*. – 2014. – V. 63, № 12. – P. 1644.
182. Mathers, A.J. The role of epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* / A.J. Mathers, G. Peirano, J.D.D. Pitout // *Clinical microbiology reviews*. - 2015. - V. 28, № 3. - P. 565-591.
183. Maura, D. Bacteriophages as twenty-first century antibacterial tools for food and medicine / D. Maura, L. Debarbieux // *Applied microbiology and biotechnology*. –

2011. – V. 90, № 3. – P. 851-859.

184. Mc Carlie, S. Molecular basis of bacterial disinfectant resistance / S. Mc Carlie, C.E. Boucher, R.R. Bragg // Drug Resistance Updates. – 2020. – V. 48. – P. 100672.

185. McGuinness, W.A. Focus: infectious diseases: vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus* / W.A. McGuinness, N. Malachowa, F.R. DeLeo // The Yale journal of biology and medicine. – 2017. – V. 90, № 2. – P. 269.

186. Michalska, M. Tuning antimicrobial properties of biomimetic nanopatterned surfaces / M. Michalska, F. Gambacorta, R. Divan, I.S. Aranson, A. Sokolov, P. Noirota, P.D. Laible // Nanoscale. – 2018. – V. 10, № 14. – P. 6639-6650.

187. Ministry of Health of People's Republic of China. Nosocomial Infection Management Method (Decree No.48) 2006. Available at: http://www.gov.cn/flfg/2006-07/25/content_344886.htm.

188. Mohr, K.I. History of antibiotics research / K.I. Mohr // How to Overcome the Antibiotic Crisis. – Springer, Cham, 2016. – P. 237-272.

189. Moradali, M. F. *Pseudomonas aeruginosa* lifestyle: a paradigm for adaptation, survival, and persistence / M.F. Moradali, S. Ghods, B.H. A. Rehm // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2017. – V. 7. – P. 39.

190. Muller, M.P. Antimicrobial surfaces to prevent healthcare-associated infections: a systematic review / M.P. Muller, C. MacDougall, M. Lim // Journal of Hospital Infection. - 2016. - V. 92, № 1. – P. 7-13.

191. Müller, D.W. Increasing antibacterial efficiency of Cu surfaces by targeted surface functionalization via ultrashort pulsed direct laser interference patterning / D.W. Müller, S. Lößlein, E. Terriac, K. Brix, K. Siems, R. Moeller, R. Kautenburger, F. Mücklich // Advanced Materials Interfaces. – 2021. – V. 8, № 5. – P. 2001656.

192. Munoz-Price, L.S. Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases / L.S. Munoz-Price, L. Poirel, R.A. Bonomo, M.J. Schwaber, G.L. Daikos, M. Cormican, G. Cornaglia, J. Garau, M. Gniadkowski, M.K. Hayden, K. Kumarasamy, D.M. Livermore, J.J. Maya, P. Nordmann, J.B. Patel, D.L. Paterson, J. Pitout, M.V. Villegas, H. Wang, N. Woodford, J.P. Quinn // The Lancet

infectious diseases. – 2013. – V. 13, № 9. – P. 785-796.

193. Narenkumar, J. Impact and role of bacterial communities on biocorrosion of metals used in the processing industry / J. Narenkumar, M.S. AlSalhi, A.A. Prakash, S. Abilaji, S. Devanesan, A. Rajasekar, A.A. Alfuraydi // ACS omega. – 2019. – V. 4, № 25. – P. 21353-21360.

194. National Health Commission of the People's Republic of China. Accreditation regulation of control and prevention of healthcare-associated infection in hospital (WS/T 592–2018) (in Chinese). 2018. Available at: <http://www.nhfpc.gov.cn/ewebeditor/uploadfile/2018/05/20180523110555724.pdf>.

195. Nikiforov, A. Non-thermal plasma technology for the development of antimicrobial surfaces: a review / A. Nikiforov, X. Deng, Q. Xiong, U. Cvelbar, N. DeGeyter, R. Morent, C. Leys // Journal of Physics D: Applied Physics. – 2016. – V. 49, № 20. – P. 204002.

196. Nitsch-Osuch, A. Antibiotic prescription practices among children with influenza / A. Nitsch-Osuch, E. Gyrczuk, A. Wardyn, K. Życinska, L. Brydak // Respiratory Contagion. – Springer, Cham, 2015. – P. 25-31.

197. Nowlin, K. Adhesion-dependent rupturing of *Saccharomyces cerevisiae* on biological antimicrobial nanostructured surfaces / K. Nowlin, A. Boseman, A. Covell, D. LaJeunesse // Journal of The Royal Society Interface. – 2015. – V. 12, № 102. – P. 20140999.

198. Oh, J.K. Modification of aluminum surfaces with superhydrophobic nanotextures for enhanced food safety and hygiene / J.K. Oha, S. Liub, M. Jones, Y. Yeginc, L. Hao, T.N. Tolen, N. Nagabandi, E.A. Scholar, A. Castillo, T.M. Taylor, L. Cisneros-Zevallos, M. Akbulut // Food Control. – 2019. – V. 96. – P. 463-469.

199. Oldfield, E. Resistance-resistant antibiotics / E. Oldfield, X. Feng // Trends in Pharmacological Sciences. – 2014. – V. 35, № 12. – P. 664-674.

200. O'Neill, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendations / J. O'Neill. – 2016.

201. Osman, G.E.H. Recent Progress in Metal-Microbe Interactions: Prospects in

- Bioremediation / G.E.H. Osman, H.H. Abulreesh, K. Elbanna, M.R. Shaaban // J Pure Appl Microbiol. – 2019. – V. 13, № 1. – P. 13-26.
202. Palliyil, S. High-sensitivity monoclonal antibodies specific for homoserine lactones protect mice from lethal *Pseudomonas aeruginosa* infections / S. Palliyil, C. Downham, I. Broadbent, K. Charlton, A.J. Porter // Applied and environmental microbiology. – 2014. – V. 80, № 2. – P. 462-469.
203. Palmer, A.C. Nonoptimal gene expression creates latent potential for antibiotic resistance / A.C. Palmer, R. Chait, R. Kishony // Molecular biology and evolution. – 2018. – V. 35, № 11. – P. 2669-2684.
204. Pan, Q. Picosecond laser-textured stainless steel superhydrophobic surface with an antibacterial adhesion property / Q. Pan, Y. Cao, W. Xue, D. Zhu, W. Liu // Langmuir. – 2019. – V. 35, № 35. – P. 11414-11421.
205. Pang, X.Y. Biofilm formation and disinfectant resistance of *Salmonella spp.* in mono and dual species with *Pseudomonas aeruginosa* / X.Y. Pang, Y.S. Yang, H.G. Yuk // Journal of applied microbiology. – 2017. – V. 123, № 3. – P. 651-660.
206. Pang, Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies / Z. Pang, R. Raudonis, B.R. Glick, T.J. Lin, Z. Cheng // Biotechnology advances. – 2019. – V. 37, № 1. – P. 177-192.
207. Park, S.Y. Impact of adequate empirical combination therapy on mortality from bacteremic *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia / S.Y. Park, H.J. Park, S.M. Moon, K.H. Park, Y.P. Chong, M.N. Kim, S.H. Kim, S.O. Lee, Y.S. Kim, J.H. Woo, S.H. Choi // BMC infectious diseases. – 2012. – V. 12, № 1. – P. 1-6.
208. Parker, D.L. Effects of cellular metabolism and viability on metal ion accumulation by cultured biomass from a bloom of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* / D.L. Parker, L.C. Rai, N. Mallick, P.K. Rai, H.D. Kumar // Applied and environmental microbiology. – 1998. – V. 64, № 4. – P. 1545-1547.
209. Partridge, S.R. Mobile genetic elements associated with antimicrobial resistance / S.R. Partridge, S.M. Kwong, N. Firth, S.O. Jensen // Clinical microbiology reviews. – 2018. – V. 31, № 4. – e00088-17.

210. Pehrsson, E.C. Interconnected microbiomes and resistomes in low-income human habitats / E.C. Pehrsson, P. Tsukayama, S. Patel, M. Mejía-Bautista, G. Sosa-Soto, K.M. Navarrete, M. Calderon, L. Cabrera, W. Hoyos-Arango, M.T. Bertoli, D.E. Berg, R.H. Gilman, G. Dantas // *Nature*. – 2016. – V. 533, № 7602. – P. 212-216.
211. Peymani, A. Emergence of plasmid-mediated quinolone-resistant determinants in *Klebsiella pneumoniae* isolates from Tehran and Qazvin provinces, Iran / A. Peymani, T.N. Farivar, L. Nikooei, R. Najafipour, A. Javadi, A.A. Pahlevan // *Journal of preventive medicine and hygiene*. – 2015. – V. 56, № 2. – P. E61.
212. Pilkington, G.A. Amontonian frictional behaviour of nanostructured surfaces / G.A. Pilkington, E. Thormann, P.M. Claesson, G.M. Fuge, O.J.L. Fox, M.N.R. Ashfold, H. Leese, D. Mattiac, W.H. Briscoe // *Physical Chemistry Chemical Physics*. – 2011. – V. 13, № 20. – P. 9318-9326.
213. Pilkington, G.A. Nanofluids mediating surface forces / G.A. Pilkington, W.H. Briscoe // *Advances in colloid and interface science*. – 2012. – V. 179. – P. 68-84.
214. Pirnay, J.P. Introducing yesterday's phage therapy in today's medicine / J.P. Pirnay, G. Verbeken, T. Rose, S. Jennes, M. Zizi, I. Huys, R. Lavigne, M. Merabishvili, M. Vaneechoutte, A. Buckling, D. De Vos // *Future Virology*. – 2012. – V. 7, № 4. – P. 379-390.
215. Poirel, L. Genetic features of blaNDM-1-positive *Enterobacteriaceae* / L. Poirel, L. Dortet, S. Bernabeu, P. Nordmann // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. - 2011. - V. 55, № 11. - P. 5403-5407.
216. Poole, K. At the nexus of antibiotics and metals: the impact of Cu and Zn on antibiotic activity and resistance / K. Poole // *Trends in microbiology*. – 2017. – V. 25, № 10. – P. 820-832.
217. Potron, A. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology / A. Potron, L. Poirel, P. Nordmann // *International journal of antimicrobial agents*. – 2015. – V. 45, № 6. – P. 568-585.
218. Preočanin, T. Surface charge at Teflon/aqueous solution of potassium chloride

interfaces / T. Preočanin, A. Selmani, P. Lindqvist-Reis, F. Heberling, N. Kallay, J. Lützenkirchen // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2012. – V. 412. – P. 120-128.

219. Quignon, B. Sustained frictional instabilities on nanodomed surfaces: Stick–slip amplitude coefficient / B. Quignon, G.A. Pilkington, E. Thormann, P.M. Claesson, M.N.R. Ashfold, D. Mattia, H. Leese, S.A. Davis, W.H. Briscoe // *ACS nano*. – 2013. – V. 7, № 12. – P. 10850-10862.

220. Rahbarnia, L. Evolution of phage display technology: from discovery to application / L. Rahbarnia, S. Farajnia, H. Babaei, J. Majidi, K. Veisi, V. Ahmadzadeh, B. Akbari // *Journal of drug targeting*. – 2017. – V. 25, № 3. – P. 216-224.

221. Rahim, M.I. Susceptibility of metallic magnesium implants to bacterial biofilm infections / M.I. Rahim, M. Rohde, B. Rais, J.M. Seitz, P.P. Mueller // *Journal of Biomedical Materials Research Part A*. – 2016. – V. 104, № 6. – P. 1489-1499.

222. Rajan, Y.C. Synthesis and characterization of poly (γ -glutamic acid)-based alumina nanoparticles with their protein adsorption efficiency and cytotoxicity towards human prostate cancer cells / Y.C. Rajan, B.S. Inbaraj, B.H. Chen // *RSC Advances*. – 2015. – V. 5, № 20. – P. 15126-15139.

223. Rakonjac, J. Filamentous bacteriophage: biology, phage display and nanotechnology applications / J. Rakonjac, N.J. Bennett, J. Spagnuolo, D. Gagic, M. Russel // *Current issues in molecular biology*. – 2011. – V. 13, № 2. – P. 51.

224. Rawal, B.D. Variation in Microbial Survival and Growth in Intravenous Fluids / B.D. Rawal, M.C. Nahata // *Chemotherapy*. – 1985. – V. 31, № 4. – P. 318-323.

225. Rehman, M. The era of biofunctional biomaterials in orthopedics: what does the future hold? / M. Rehman, A. Madni, T.J. Webster // *Expert review of medical devices*. – 2018. – V. 15, № 3. – P. 193-204.

226. Rios, A.C. Alternatives to overcoming bacterial resistances: state-of-the-art / A.C. Rios, C.G. Moutinho, F.C. Pinto, F.S. Del Fiol, A. Jozala, M.V. Chaud, M.M.D.C. Vila, J.A. Teixeira, V.M. Balcão // *Microbiological Research*. – 2016. – V. 191. – P. 51-80.

227. Rios, A.C. Structural and functional stabilization of bacteriophage particles within

the aqueous core of a W/O/W multiple emulsion: A potential biotherapeutic system for the inhalational treatment of bacterial pneumonia / A.C. Rios, M.M.D.C. Vila, R. Lima, F.S. Del Fiol, M. Tubino, J.A. Teixeira, V.M. Balcão // *Process Biochemistry*. – 2018. – V. 64. – P. 177-192.

228. Robinson, D.A. In vitro antibacterial properties of magnesium metal against *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* / D.A. Robinson, R.W. Griffith, D. Shechtman, R.B. Evans, M.G. Conzemius // *Acta biomaterialia*. – 2010. – V. 6, № 5. – P. 1869-1877.

229. Roca, I. The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention / I. Roca, M. Akova, F. Baquero, J. Carlet, M. Cavaleri, S. Coenen, J. Cohen, D. Findlay, I. Gyssens, O.E. Heur, G. Kahlmeter, H. Kruse, R. Laxminarayan, E. Liébana, L. López-Cerero, A. MacGowan, M. Martins, J. Rodríguez-Baño, J.M. Rolain, C. Segovia, B. Sigauque, E. Tacconelli, E. Wellington, J. Vila // *New microbes and new infections*. – 2015. – V. 6. – P. 22-29.

230. Rodríguez-Rubio, L. Phage lytic proteins: biotechnological applications beyond clinical antimicrobials / L. Rodríguez-Rubio, D. Gutiérrez, D.M. Donovan, B. Martínez, A. Rodríguez, P. García // *Critical reviews in biotechnology*. - 2016. - V. 36, № 3. - P. 542-552.

231. Rodríguez-Sánchez, J. Bactericidal effect of magnesium ions over planktonic and sessile *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* / J. Rodríguez-Sánchez, M.Á. Pacha-Olivenza, M.L. González-Martín // *Materials Chemistry and Physics*. – 2019. – V. 221. – P. 342-348.

232. Rossi, E. *Pseudomonas aeruginosa* adaptation and evolution in patients with cystic fibrosis / E. Rossi, R. La Rosa, J.A. Bartell, R.L. Marvig, J.A.J. Haagensen, L.M. Sommer, S. Molin, H.K. Johansen // *Nature Reviews Microbiology*. – 2021. – V. 19, № 5. – P. 331-342.

233. Roy, R. Strategies for combating bacterial biofilms: A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action / R. Roy, M. Tiwari, G. Donelli, V. Tiwari // *Virulence*. - 2018. - V. 9, № 1. - P. 522-554.

234. Rumbaugh, K.P. Biofilm dispersion / K. P. Rumbaugh, K. Sauer // *Nature Reviews Microbiology*. – 2020. – V. 18, № 10. – P. 571-586.
235. Sakr, A. *Staphylococcus aureus* nasal colonization: an update on mechanisms, epidemiology, risk factors, and subsequent infections / A. Sakr, F. Brégeon, J.L. Mège, J.M. Rolain, O. Blin // *Frontiers in microbiology*. – 2018. – V. 9. – P. 2419.
236. Salgado, C.D. Copper surfaces reduce the rate of healthcare-acquired infections in the intensive care unit / C.D. Salgado, K.A. Sepkowitz, J.F. John, J.R. Cantey, H.H. Attaway, K.D. Freeman, P.A. Sharpe, H.T. Michels, M.G. Schmidt // *Infection Control and Hospital Epidemiology*. – 2013. – V. 34, № 5. – P. 479-486.
237. Salmond, G.P.C. A century of the phage: past, present and future / G.P.C. Salmond, P. C. Fineran // *Nature Reviews Microbiology*. – 2015. – V. 13, № 12. – P. 777-786.
238. Santajit, S. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens / S. Santajit, N. Indrawattana // *BioMed research international*. – 2016. – P. 2016.
239. Santo, C.E. Contribution of copper ion resistance to survival of *Escherichia coli* on metallic copper surfaces / C.E. Santo, N. Taudte, D.H. Nies, G. Grass // *Applied and environmental microbiology*. – 2008. – V. 74, № 4. – P. 977-986.
240. Scanlan, P.D. Bacteria–bacteriophage coevolution in the human gut: implications for microbial diversity and functionality / P. D. Scanlan // *Trends in microbiology*. – 2017. – V. 25, № 8. – P. 614-623.
241. Scibilia, S. Self-assembly of silver nanoparticles and bacteriophage / S. Scibilia, G. Lentini, E. Fazio, D. Franco, F. Neri, A.M. Mezzasalma, S.P.P. Guglielmino // *Sensing and bio-sensing research*. – 2016. – V. 7. – P. 146-152.
242. Secher, T. The anti-*Pseudomonas aeruginosa* antibody *Panobacumab* is efficacious on acute pneumonia in neutropenic mice and has additive effects with meropenem / T. Secher, S. Fas, L. Fauconnier, M. Mathieu, O. Rutschi, B. Ryffel, M. Rudolf // *PloS one*. – 2013. – V. 8, № 9. – e73396.
243. Shao, Y. Advance in antibacterial magnesium alloys and surface coatings on magnesium alloys: a review / Y. Shao, R.C. Zeng, S.Q. Li, L.Y. Cui, Y.H. Zou, S.K.

Guan, Y.F. Zheng // *Acta Metallurgica Sinica (English Letters)*. – 2020. – V. 33, № 5. – P. 615-629.

244. Shrivastava, S. R. B. L. World health organization releases global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics / S.R.B.L. Shrivastava, P.S. Shrivastava, J. Ramasamy // *Journal of Medical Society*. – 2018. – V. 32, № 1. – P. 76.

245. Siedenbiedel, F. Antimicrobial polymers in solution and on surfaces: overview and functional principles / F. Siedenbiedel, J. C. Tiller // *Polymers*. – 2012. – V. 4, № 1. – P. 46-71.

246. Sievert, D.M. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010 / D.M. Sievert, P. Ricks, J.R. Edwards, A. Schneider, J. Patel, A. Srinivasan, A. Kallen, B. Limbago, S. Fridkin // *Infection control and hospital epidemiology*. – 2013. – V. 34, № 1. – P. 1-14.

247. Silby, M.W. *Pseudomonas* genomes: diverse and adaptable / M.W. Silby, C. Winstanley, S.A.C. Godfrey, S.B. Levy, R.W. Jackson // *FEMS microbiology reviews*. – 2011. – V. 35, № 4. – P. 652-680.

248. Silhavy, T.J. The bacterial cell envelope / T.J. Silhavy, D. Kahne, S. Walker // *Cold Spring Harbor perspectives in biology*. – 2010. – V. 2, № 5. – a000414.

249. Sillankorva, S.M. Bacteriophages and their role in food safety / S.M. Sillankorva, H. Oliveira, J. Azeredo // *International journal of microbiology*. – 2012. – V. 2012.

250. Son, J. Bacterial inactivation characteristics of magnesium–calcium–zinc alloys for bone implants / J. Son, J.K. Oh, D.H. Cho, M. Akbulut, W. Teizer // *MRS Communications*. – 2020. – V. 10, № 4. – P. 609-612.

251. Spellberg, B. The future of antibiotics and resistance: a tribute to a career of leadership by John Bartlett / B. Spellberg, D.N. Gilbert // *Clinical infectious diseases*. – 2014. – V. 59, № suppl_2. – P. S71-S75.

252. Steinmetz, T. Association of vancomycin serum concentrations with efficacy in patients with MRSA infections: a systematic review and meta-analysis / T. Steinmetz,

- N. Eliakim-Raz, E. Goldberg, L. Leibovici, D. Yahav // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2015. – V. 21, № 7. – P. 665-673.
253. Su, Y. Bioinspired surface functionalization of metallic biomaterials / Y. Su, C. Luo, Z. Zhang, H. Hermawan, D. Zhu, J. Huang, Y. Liang, G. Li, L. Ren // *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*. – 2018. – V. 77. – P. 90-105.
254. Suetens, C. Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017 / C. Suetens, K. Latour, T. Kärki, E. Ricchizzi, P. Kinross, M.L. Moro, B. Jans, S. Hopkins, S. Hansen, O. Lyytikäinen, J. Reilly, A. Deptula, W. Zingg, D. Plachouras, D.L. Monnet // *Eurosurveillance*. – 2018. – V. 23, № 46. – P. 1800516.
255. Sugden, R. Combatting antimicrobial resistance globally / R. Sugden, R. Kelly, S. Davies // *Nature microbiology*. – 2016. – V. 1, № 10. – P. 1-2.
256. Sun, J. Bacterial multidrug efflux pumps: mechanisms, physiology and pharmacological exploitations / J. Sun, Z. Deng, A. Yan // *Biochemical and biophysical research communications*. – 2014. – V. 453, № 2. – P. 254-267.
257. Tacconelli, E. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis / E. Tacconelli, E. Carrara, A. Savoldi, S. Harbarth, M. Mendelson, D.L. Monnet, C. Pulcini, G. Kahlmeter, J. Kluytmans, Y. Carmeli, M. Ouellette, K. Outterson, J. Patel, M. Cavalieri, E.M. Cox, C.R. Houchens, M. L. Grayson, P. Hansen, N. Singh, U. Theuretzbacher, N. Magrini // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2018. – V. 18, № 3. – P. 318-327.
258. Tacconelli, E. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients / E. Tacconelli, M.A. Cataldo, S.J. Dancer, G. De Angelis, M. Falcone, U. Frank, G. Kahlmeter, A. Pan, N. Petrosillo, J. Rodríguez-Baño, N. Singh, M. Venditti, D.S. Yokoe, B. Cookson // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2014. – V. 20. – P. 1-55.
259. Toncheva-Panova, T. Incorporation of *synechocystis salina* in hybrid matrices.

Effect of UV-B radiation on the copper and cadmium biosorption / T. Toncheva-Panova, I. Pouneva, G. Chernev, K. Minkova // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. - 2010. - V. 24, № 3. - P. 1946-1949.

260. Tong, S.Y.C. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management / S.Y.C. Tong, J.S. Davis, E. Eichenberger, T.L. Holland, V.G. Fowler Jr // *Clinical microbiology reviews*. – 2015. – V. 28, № 3. – P. 603-661.

261. Tripathy, A. Natural and bioinspired nanostructured bactericidal surfaces / A. Tripathy, P. Sen, B. Su, W.H. Briscoe // *Advances in colloid and interface science*. – 2017. – V. 248. – P. 85-104.

262. Truong, V.K. The susceptibility of *Staphylococcus aureus* CIP 65.8 and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9721 cells to the bactericidal action of nanostructured *Calopteryx haemorrhoidalis* damselfly wing surfaces / V.K. Truong, N.M. Geeganagamage, V.A. Baulin, J. Vongsvivut, M.J. Tobin, P. Luque, R.J. Crawford, E.P. Ivanova // *Applied microbiology and biotechnology*. – 2017. – V. 101, № 11. – P. 4683-4690.

263. Veerachamy, S. Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: a review / S. Veerachamy, T. Yarlagadda, G. Manivasagam, P. K. Yarlagadda // *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*. – 2014. – V. 228, № 10. – P. 1083-1099.

264. Verderosa, A.D. Bacterial biofilm eradication agents: a current review / A.D. Verderosa, M. Totsika, K.E. Fairfull-Smith // *Frontiers in chemistry*. – 2019. – V. 7. – P. 824.

265. Vincent, M. Contact killing and antimicrobial properties of copper / M. Vincent, R.E. Duval, P. Hartemann, M. Engels-Deutsch // *Journal of applied microbiology*. – 2018. – V. 124, № 5. – P. 1032-1046.

266. Vincent, M. Antimicrobial applications of copper / M. Vincent, P. Hartemann, M. Engels-Deutsch // *International journal of hygiene and environmental health*. – 2016. – V. 219, № 7. – P. 585-591.

267. Viswanathan, V.K. Off-label abuse of antibiotics by bacteria / V.K. Viswanathan // *Gut Microbes*. – 2014. – V. 5, № 1. – P. 3-4.
268. Walkty, A. In vitro activity of plazomicin against 5,015 Gram-negative and Gram-positive clinical isolates obtained from patients in Canadian hospitals as part of the CANWARD study, 2011-2012 / A. Walkty, H. Adam, M. Baxter, A. Denisuik, P. Lagacé-Wiens, J.A. Karlowsky, D.J. Hoban, G.G. Zhanel // *Antimicrobial agents and chemotherapy*. – 2014. – V. 58, № 5. – P. 2554-2563.
269. Wandiyanto, J.V. Tunable morphological changes of asymmetric titanium nanosheets with bactericidal properties / J.V. Wandiyanto, T. Tamanna, D.P. Linklater, V.K. Truong, M.Al Kobaisi, V.A. Baulin, S. Joudkazis, H. Thissen, R.J. Crawford, E.P. Ivanova // *Journal of colloid and interface science*. – 2020. – V. 560. – P. 572-580.
270. Wang, J. Burden of healthcare-associated infections in China: results of the 2015 point prevalence survey in Dong Guan City / J. Wan, J. Hu, S. Harbarth, D. Pittet, M. Zhou, W. Zingg // *Journal of Hospital Infection*. – 2017. – V. 96, № 2. – P. 132-138.
271. Wang, P. An electrostatic model predicting Cu and Ni toxicity to microbial processes in soils / P. Wang, T.B. Kinraide, E. Smolders, D.M. Zhou, N.W. Menzies, S. Thakali, W.W. Xia, X.Z. Hao, W.J.G.M. Peijnenburg, P.M. Kopittke // *Soil Biology and Biochemistry*. – 2013. – V. 57. – P. 720-730.
272. Wang, P. Fabrication of slippery lubricant-infused porous surface with high underwater transparency for the control of marine biofouling / P. Wang, D. Zhang, S. Sun, T. Li, Y. Sun // *ACS applied materials and interfaces*. – 2017. – V. 9, № 1. – P. 972-982.
273. Wang, R. The global distribution and spread of the mobilized colistin resistance gene *mcr-1* / R. Wang, L. van Dorp, L.P. Shaw, P. Bradley, Q. Wang, X. Wang, L. Jin, Q. Zhang, Y. Liu, A. Rieux, T. Dorai-Schneiders, L.A. Weinert, Z. Iqbal, X. Didelot, H. Wang, F. Balloux // *Nature communications*. – 2018. – V. 9, № 1. – P. 1-9.
274. Wang, X. What is going on in magnesium alloys? / X. Wang, D.K. Xu, R. Wu, X. Chen, Q. Peng, L. Jin, Y. Xin, Z. Zhang, Y. Liu, X. Chen, G. Chen, K. Deng, H. Wang // *Journal of Materials Science & Technology*. – 2018. – V. 34, № 2. – P. 245-247.

275. Wang, Y. Bioinert anodic alumina nanotubes for targeting of endoplasmic reticulum stress and autophagic signaling: a combinatorial nanotube-based drug delivery system for enhancing cancer therapy / Y. Wang, G. Kaur, Y. Chen, A. Santos, D. Losic, A. Evdokiou // *ACS applied materials & interfaces*. – 2015. – V. 7, № 49. – P. 27140-27151.
276. Wassenaar, T.M. Review and phylogenetic analysis of qac genes that reduce susceptibility to quaternary ammonium compounds in *Staphylococcus* species / T.M. Wassenaar, D. Ussery, L.N. Nielsen, H. Ingmer // *European Journal of Microbiology and Immunology*. - 2015. - V. 5, № 1. - P. 44-61.
277. Weiner, L.M. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2011–2014 / L.M. Weiner, A.K. Webb, B. Limbago, M.A. Dudeck, J. Patel, A.J. Kallen, J.R. Edwards, D.M. Sievert // *Infection Control and Hospital Epidemiology*. – 2016. – V. 37, № 11. – P. 1288-1301.
278. Weiner-Lastinger, L.M. Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015–2017 / L.M. Weiner-Lastinger, S. Abner, J.R. Edwards, A.J. Kallen, M. Karlsson, S.S. Magill, D. Pollock, I. See, M.M. Soe, M.S. Walters, M.A. Dudeck // *Infection Control and Hospital Epidemiology*. – 2020. – V. 41, № 1. – P. 1-18.
279. Wi, Y.M. Understanding biofilms and novel approaches to the diagnosis, prevention, and treatment of medical device-associated infections / Y. M. Wi, R. Patel // *Infectious Disease Clinics*. – 2018. – V. 32, № 4. – P. 915-929.
280. Williams, C.L. Copper resistance of the emerging pathogen *Acinetobacter baumannii* / C.L. Williams, H.M. Neu, J.J. Gilbreath, S.L.J. Michel, D.V. Zurawski, D.S. Merrell // *Applied and environmental microbiology*. – 2016. – V. 82, № 20. – P. 6174-6188.
281. Woerther, P.L. Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases

in the community: toward the globalization of CTX-M / P.L. Woerther, C. Burdet, E. Chachaty, A. Andremont // *Clinical microbiology reviews*. – 2013. – V. 26, № 4. – P. 744-758.

282. Wong, D. Clinical and pathophysiological overview of *Acinetobacter* infections: a century of challenges / D. Wong, T.B. Nielsen, R.A. Bonomo, P. Pantapalangkoor, B. Luna, B. Spellberg // *Clinical microbiology reviews*. – 2017. – V. 30, № 1. – P. 409-447.

283. World Health Organization. Regional Office for Europe. Antimicrobial Resistance Surveillance in Europe 2022–2020 data. – Geneva: World Health Organization. – 2022.

Режим

доступа:

<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/351141/9789289056687-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

284. World Health Organization. Global antimicrobial resistance and use surveillance system (GLASS) report: 2021. – 2021.

285. World Health Organization. Worldwide country situation analysis: response to antimicrobial resistance: summary. – 2015.

286. Wu, H. Strategies for combating bacterial biofilm infections / H. Wu, C. Moser, H.Z. Wang, N. Høiby, Z.J. Song // *International journal of oral science*. – 2015. – V. 7, № 1. – P. 1-7.

287. Wyres, K.L. *Klebsiella pneumoniae* as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria / K.L. Wyres, K.E. Holt // *Current opinion in microbiology*. – 2018. – V. 45. – P. 131-139.

288. Xiao, Y. Changes in Chinese policies to promote the rational use of antibiotics / Y. Xiao, J. Zhang, B. Zheng, L. Zhao, S. Li, L. Li // *PLoS Med*. – 2013. – P. 10, № 11. – e1001556.

289. Yang, H. Engineered bacteriophage lysins as novel anti-infectives / H. Yang, J. Yu, H. Wei // *Frontiers in microbiology*. – 2014. – V. 5. – P. 542.

290. Yuan, Y. Enhanced biomimic bactericidal surfaces by coating with positively-charged ZIF nano-dagger arrays / Y. Yuan, Y. Zhang // *Nanomedicine*:

Nanotechnology, Biology and Medicine. – 2017. – V. 13, № 7. – P. 2199-2207.

291. Yusop, A.H. Porous biodegradable metals for hard tissue scaffolds: a review / A.H. Yusop, A.A. Bakir, N.A. Shaharom, M.R.A. Kadir, H. Hermawan // International journal of biomaterials. – 2012. – V. 2012.

292. Zarasvand, K.A. Microorganisms: induction and inhibition of corrosion in metals / K.A. Zarasvand, V.R. Rai // International Biodeterioration & Biodegradation. - 2014. - V. 87. – P. 66-74.

293. Zhang X., Wang L., Levänen E. Superhydrophobic surfaces for the reduction of bacterial adhesion / X. Zhang, L. Wang, E. Levänen // Rsc Advances. – 2013. – V. 3, № 30. – P. 12003-12020.

294. Zimmermann, R. Hydroxide and hydronium ion adsorption - A survey / R. Zimmermann, U. Freudenberg, R. Schweiß, D. Küttner, C. Werner // Current Opinion in Colloid & Interface Science. – 2010. – V. 15, № 3. – P. 196-202.

295. Zou, F. Wrinkled surface-mediated antibacterial activity of graphene oxide nanosheets / F. Zou, H. Zhou, D.Y. Jeong, J. Kwon, S.U. Eom, T.J. Park, S.W. Hong, J. Lee // ACS applied materials&interfaces. - 2017. - V. 9, № 2. – P. 1343-1351.

296. Zouaghi, S. Biomimetic surface modifications of stainless steel targeting dairy fouling mitigation and bacterial adhesion / S. Zouaghi, S. Bellayer, V. Thomy, T. Dargent, Y. Coffinier, C. Andre, G. Delaplace, M. Jimenez // Food and bioproducts processing. – 2019. - V. 113. – P. 32-38.