

MECHANISMS OF THE RESISTANCE OF BACTERIA AND VIRUSES TO THE DISINFECTANTS AND ANTISEPTICS

Korchak H.I., Klimenko I.V., Surmasheva O.V., Romanenko L.I., Gorval A.K.

МЕХАНИЗМИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ БАКТЕРІЙ І ВІРУСІВ К ДЕЗІНФЕКТАНТАМ І АНТИСЕПТИКАМ

В

2018 году ВОЗ начала публиковать результаты работы глобальной системы наблюдения за устойчивостью микроорганизмов к антибиотикам [1]. В Украине также началось обсуждение проекта государственной стратегии по борьбе с антибиотикорезистентностью как одного из направлений профилактики распространения инфекций. В развитии этого направления не менее актуальным является изучение механизмов резистентности к дезинфекционным средствам (ДС) и антисептическим средствам (АС).

Микроорганизмы обладают уникальным и совершенным свойством адаптации к воздействию факторов окружающей среды. Их способность выживать в условиях химического загрязнения и под воздействием многих агрессивных физических факторов способствует активному формированию резистентности. В связи с ростом микробной резистентности возникла реаль-

ная необходимость поиска новых активных биоцидов, изучения механизмов формирования устойчивости микроорганизмов к существующим средствам, разработки методов ее определения. В отличие от антибиотикорезистентности под резистентностью микроорганизмов (бактерий и вирусов) к ДС и АС следует понимать потерю чувствительности к минимальной ингибирующей концентрации и времени контакта. Устойчивость микроорганизмов к ДС развивается по мере все более широкого применения последних с целью профилактики распространения инфекций. Так же, как и к антибиотикам, устойчивость микроорганизмов к ДС развивается под воздействием «благоприятных» факторов, которыми являются несоблюдение концентраций, длительности контакта, наличие органических и других загрязнений, химическая природа действующего фактора и, естественно, строение и свойства самих микроорганизмов.

Для антибактериальных соединений широко используется термин «биоцид», куда входят дезинфектанты и антисептики. Дезинфектанты предназначены для обработки поверхностей неживых объектов. Антисептики – это биоциды, которые вызывают гибель или ингибируют рост микроорганизмов на (или в) живой ткани.

¹КОРЧАК Г.И.,
^{2,3}КЛИМЕНКО И.В.,
¹СУРМАШЕВА О.В.,
¹РОМАНЕНКО Л.И.,
¹ГОРВАЛЬ А.К.

¹ГУ «Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева НАМН Украины», г. Киев
²Национальная медицинская академия последипломного образования им. П.Л. Шупика, г. Киев
³ООО «НПП «Вилан»

Ключевые слова :
бактерии и вирусы,
дезинфицирующие
средства, антисептики,
механизм резистентности,
мутация генов.

МЕХАНИЗМИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ БАКТЕРІЙ ТА ВІРУСІВ ДО ДЕЗІНФЕКТАНТІВ ТА АНТИСЕПТИКІВ

¹Корчак Г.І., ^{2,3}Клименко І.В.,
¹Сурмашева О.В., ¹Романенко Л.І.,
¹Горваль А.К.

¹ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України», м. Київ
²Національна медична академія післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м. Київ
³ТОВ «НВП «Вілан», м. Київ, Україна

У статті представлено основні механізми резистентності бактерій та вірусів до дезинфектантів та антисептиків (резистентність внутрішня та набута). Дано коротку інформацію про компоненти бактеріальної клітини, які зумовлюють її внутрішню резистентність. Наведено дані про частоту резистентності за рахунок мутацій та горизонтальної передачі генів. Викладено основні відомості про дію окислювачів, ультрафіолету та тепла на віруси. Приділено увагу деяким теоретичним та методичним питанням.

Ключові слова: бактерії та віруси, дезинфікуючі засоби, антисептики, механізм резистентності, мутація генів.

MECHANISMS OF THE RESISTANCE OF BACTERIA AND VIRUSES TO THE DISINFECTANTS AND ANTISEPTICS

¹Korchak H.I., ^{2,3}Klimenko I.V., ¹Surmasheva O.V.,
¹Romanenko L.I., ¹Gorval A.K.

¹SI «O.M. Marzieiev Institute for Public Health NAMS Ukraine», Kyiv, Ukraine
²National P.L. Shupyk Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine
³Vilan, Scientific and Production Enterprise, LTD, Kyiv, Ukraine

In this article we presented the main mechanisms of the resistance of bacteria and viruses to the disinfectants and antiseptics (internal and acquired resistance). There is brief information on the components of the bacterial cell which determine its internal resistance. Data on the frequency of the resistance due to the mutations and horizontal gene transfer are given.

The basic information about the effects of the oxidizing agents, ultraviolet radiation, and heat on viruses is presented. We paid attention to some theoretical and methodological issues.

Keywords: bacteria and viruses, disinfectants, antiseptics, resistance mechanism, gene mutation.

© Корчак Г.І., Клименко І.В., Сурмашева О.В., Романенко Л.І., Горваль А.К. СТАТТЯ, 2019.

Взаимодействие микроорганизмов с ДС или АС можно кратко представить в следующей последовательности [2]: адсорбция на поверхности клетки, разрушение клеточной стенки и мембраны, проникновение в цитоплазму, нарушение биохимических функций, блокировка поступления питательных веществ, дезорганизация структуры, дезактивация отходов.

Резистентность микроорганизмов бывает врожденной и приобретенной [2, 3]. Механизмы врожденной (внутренней) резистентности микроорганизмов достаточно разнообразны. Они сформировались путем естественной эволюции бактерий и вирусов в природе, а также за счет высокой пластичности микробной клетки. Внутренняя резистентность к ДС и АС представляет собой барьер для проникновения действующего агента сквозь наружную мембрану клетки микроорганизма (абсолютная непроницаемость или частичное поглощение ДС), результат действия ферментов, синтезируемых клеткой, которые могут нейтрализовать ДС и АС или разрушать, а также модифицировать их.

Приобретенная (генетическая) резистентность осуществляется двумя путями: мутации генов и получения чужеродной ДНК, кодирующей резистентность через горизонтальный перенос генов.

Как правило, внешний генетический материал клетки приобретают с помощью двух основных стратегий.

1. Мутации в генах связаны с механизмом действия ДС или АС. В основе антимикробного сопротивления лежат биохимические реакции: модификация антимикробной мишени (уменьшение сродства к ДС); уменьшение потребления ДС; активация механизмов эффлюкса и другие.

2. Горизонтальный перенос генов – это получение внешнего генетического материала с помощью трех основных стратегий:

□ трансформация – включение компетентной клеткой чужеродной ДНК из внешней среды;

□ трансдукция – перенос ДНК из одной клетки в другую посредством бактериофагов;

□ конъюгация – передача генетического материала путем непосредственного контакта между клетками (обмен информацией осуществляется плазмидами и транспозонами).

Наряду с упомянутым механизмом накопления генов устойчивости к антимикробным

соединениям являются интегроны. Интегроны обеспечивают эффективный и простой механизм добавления генов в бактериальные хромосомы.

На практике используют много разнообразных ДС и АС. Однако изучение резистентности ограничено наиболее часто применяемыми. Это четвертично-аммониевые соединения (ЧАС), спирты, бигуаниды, хлор- и кислотосодержащие, триклозан, тяжелые металлы, поверхностно-активные вещества (ПАВ) в разных комбинациях.

Механизмы взаимодействия ДС и АС с микроорганизмами обусловлены их морфологией [4-6]. Первое же взаимодействие ДС с поверхностью клетки может вызвать изменения в клеточной стенке и быть летальным. Однако большинство ДС и АС проявляют внутриклеточную активность, которая чаще всего является определяющей. Основными механизмами действия ДС на микроорганизмы являются следующие: сшивание белков ДНК, РНК; повреждение цитоплазматической мембраны с участием фосфолипидных белков (при высоких концентрациях происходит разрушение мембраны, при низких – ее повреждение); связывание, окисление ферментов; образование свободных радикалов и ряд других.

Сведения по химическому составу средств позволяют ориентироваться в механизме инактивации ДС [2]. Например, такие ДС, как глутаровый альдегид, гипохлорит, этиленоксид, пероксид водорода активно реагируют с амино- и сульфгидрильными группами и могут проявлять вирулицидный, бактерицидный эффекты.

Расположение представителей бактерий и вирусов по мере убывания их сопротивления к разработанному на сегодня ДС и АС иллюстрирует следующая схема [2]:

Prions (CJD, BSE) ⇒ Coccidia (Cryptosporidium) ⇒ Spores (Ba-

ОГЛЯД ЛИТЕРАТУРЫ

cillus, C. difficile) ⇒ **Mycobacteria (M. tuberculosis, M. avium)** ⇒ **Cysts (Gardia)** ⇒ **Small non-enveloped viruses (Polio virus)** ⇒ **Trophozoites (Acanthamoeba)** ⇒ **Gram-negative bacteria (non-sporulating) (Pseudomonas, Providencia)** ⇒ **Fungi (Candida, Aspergillus)** ⇒ **Large non-enveloped viruses (Enteroviruses, Adenovirus)** ⇒ **Gram-positive bacteria (S. aureus, Enterococcus)** ⇒ **Lipid enveloped viruses (HIV, HVB).**

Как указывалось выше, реакция микроорганизмов на ДС и АС зависит от их клеточной структуры, состава и физиологии. Природной (внутренней) резистентностью обладают грамотрицательные бактерии, бактериальные споры, микобактерии.

Ниже описаны основные составляющие указанных микроорганизмов, обеспечивающие их внутреннюю резистентность к ДС и АС [2, 4-6]. Из всех типов бактерий наиболее устойчивыми к АС и ДС являются споры родов *Bacillus* и *Clostridium*. Vegetативные формы этих микроорганизмов поддаются действию ДС и АС, наблюдается бактериостатический эффект. Бактерицидное действие оказывают лишь высокие концентрации ДС, например глутаровый альдегид и окислители. Высокие концентрации ДС хлоргексидина, фенолов, спиртов обеспечивают такой эффект только при повышенных температурах.

Высокая устойчивость *Bacillus* и *Clostridium* к действию неблагоприятных факторов и длительная выживаемость объясняются переходом их вегетативных форм в споровые и образованием основных оболочек споры: кортекса, который представляет собой слой пептидогликана и кератиноподобной оболочки. В процессе созревания спора покрывается экзоспориумом. Таким образом, спора состоит из многих слоев, образованных кислыми полипептидами, щелочной растворимой

фракцией с множеством дисульфидных связей. Эти составляющие ответственны за устойчивость споробразующих бактерий к ДС и АС.

Практическую ценность представляет информация о возможности восстановления жизнеспособности особей, поврежденных дезинфектантами и антисептиками. Поврежденные споры реанимируются под действием теплового шока, высокотемпературного пара с формальдегидом, а также возрождаются после их обработки при таких условиях различными химическими соединениями.

Комплексные средства торговых марок «Бациллоцид» и «Корзолекс», основным действующим веществом в которых является глутаровый альдегид, в высоких концентрациях оказывают спороцидное действие (при контакте до 30 мин.).

Механизм действия глутарового альдегида состоит в сильной ассоциации с внешними слоями бактериальных клеток. Такой механизм проявляется при взаимодействии практически со всеми рассматриваемыми здесь микроорганизмами. Преодолевая внутреннее сопротивление бактериальной клетки, глутаровый альдегид обеспечивает бактерицидный эффект, поэтому входит в состав многих композиций. Он проявляет активность в широком диапазоне pH, особенно активен в период физиологического созревания микроорганизмов.

Микобактерии также относятся к микроорганизмам, высокоустойчивым к ДС и АС. Как и споровые бактерии, они устойчивы к различным физико-химическим факторам. Их устойчивость обеспечивает сложное строение клеточной стенки, состоящей из арабиногалактона, липидов и воска. В ней также содержатся липополисахариды и белки. В стенке имеются пуриновые каналы, через которые могут проникать лишь мелкие гидрофильные молекулы. В целом клетки микобактерий представляют собой высокогидрофобную структуру. Высокая гидрофобность препятствует поступлению в клетку гидрофильных биоцидов в концентрациях, способных вызвать летальный эффект. На устойчивость микобактерий может оказывать влияние их экониша, в частности, вызывать изменения в составе клеточной стенки (пример – *Mycobacterium tuberculosis*). Основные ДС и АС,

проявляющие микобактериальную активность – это такие соединения, как фенол, ПАВ, пероксид водорода, спирты, глутаровый альдегид. Хлоргексидин и ЧАС не влияют даже при очень высоких концентрациях, однако их активность может возрастать в смеси с другими соединениями.

Большинство исследователей считает, что грамотрицательные микроорганизмы менее чувствительны к ДС и АС, чем грамположительные. За природную устойчивость к ДС отвечают две структуры микробной клетки: наружная мембрана (составная часть клеточной стенки) и цитоплазматическая мембрана. Наружная мембрана поглощает ДС, не пропуская его таким образом в более глубокие слои клетки. Второй слой (цитоплазматическая мембрана) вступает во взаимодействие с ДС в случае его проникновения. Изменения в мембране могут быть летальными для клетки. Однако в ряде случаев наблюдается отклонение от представленной схемы, например при штаммовых отличиях (изменение гидрофобности или состава мембраны). Последнее подтверждается не всеми исследователями.

Для грамотрицательных микроорганизмов в большей степени характерна внутренняя резистентность. Этому виду сопротивления грамотрицательных микроорганизмов присущи все основные свойства механизмов внутренней инактивации. Их клеточная стенка содержит пептидогликаны и липополисахариды, не содержит тейхоевых кислот. Наружная мембрана посредством липопротеина связана с подлежащим слоем пептидогликана. Она действует как барьер, ограничивающий проникновение крупных гидрофильных и гидрофобных структур. В ее состав входят разнообразные белки, в частности пурины, которые служат каналами для диффузии мелких гидрофильных молекул (углеводы, аминокислоты, витамины, металлы). На ультратонких срезах бактерий наружная мембрана имеет вид трехслойной структуры, сходной с внутренней мембраной – цитоплазматической. Основным компонентом этих мембран является двойной слой липидов. Внутренний слой наружной мембраны представлен фосфолипидами, а в наружном слое расположены липосахариды. Цитоплазматическая мем-

брана обеспечивает один из механизмов внутренней резистентности. Она состоит из липопротеина и предоставляет пассивную диффузию гидрофильным молекулам.

Наиболее устойчивыми в группе грамотрицательных бактерий являются *P. aeruginosa*. Их устойчивость обусловлена высоким содержанием в стенке ионов магния, что способствует созданию крепких связей между молекулами липополисахарида. Как уже указывалось, грамотрицательные микроорганизмы более устойчивы, чем грамположительные. Наблюдается заметная разница между *S. aureus* и *E. coli* (*E. coli*, в отличие от *S. aureus*, устойчивее к таким ДС, как бензалконий, бензетоний, цетримид, гексахлорофен, диамидины, триклозан).

Наружная оболочка стафилококков состоит из основного пептидогликана и тейхоевой кислоты. Ни одно из этих соединений не является барьером для проникновения ДС и АС, в том числе и высокомолекулярных. Этим объясняется их чувствительность к многим агентам. Однако упомянутое свойство может изменяться по мере роста микроорганизмов в тех или иных условиях (например, изменение состава питательной среды, наличие примесей других химических веществ). Такие факторы могут влиять на степень сшивания молекул пептидогликана и менять чувствительность микроорганизма к ДС.

S. aureus могут существовать как мукоидные штаммы. Слой слизи препятствует проникновению в клетку либо взаимодействию с ДС или АС и, таким образом, появляется резистентность к химическим соединениям. Поэтому многие исследователи считают, что стафилококки в силу своих свойств (изменение чувствительности к ДС) могут быть отнесены к тем, которые проявляют внутреннюю резистентность.

Необходимо также обратить внимание, что наличие врожденной резистентности к ДС и АС у представленной группы микроорганизмов не исключает появления резистентности за счет плазмид и мутаций.

Грибы обладают высокой устойчивостью к ДС и АС. Поскольку на сегодня нет утверждающих сведений о механизмах резистентности к ДС и АС за счет плазмид и мутаций, скорее всего можно предположить, что

грибы проявляют внутреннюю устойчивость, хотя формально они не относятся к этой группе микроорганизмов. Широко известна достаточно высокая устойчивость грибов по сравнению с вегетативными формами. Их резистентность, как и большинства бактерий, обусловлена строением микробной стенки и зависит от ее химического состава, который меняется по мере старения, утолщения стенки, изменения пористости. У грибов рода *Candida* стенка состоит из бета-глюкана, хитина и маннона. Главным компонентом является полимер бета-глюкан (до 80%). Хитин представлен полимером N – ацетилглюкозамином (до 10%), находится возле цитоплазматической мембраны – наиболее уязвимой части клетки (мембрана содержит большое количество эргостерона и систему различных ферментов).

При разработке антифунгицидов специалисты ориентируются именно на эту уязвимую часть микробной клетки. По данным электронной микроскопии, стенка состоит из 3-8 слоев. Их количество зависит от условий культивирования и возраста. На основании имеющихся результатов можно сделать общий вывод: устойчивость *Candida* к ДС и АС зависит от наличия глюкана, хитина, толщины стенки и пористости. Возраст культуры также влияет на устойчивость. Так, микроорганизм более чувствителен к хлоргексидину в фазе логарифмического роста по сравнению со стационарной фазой. В этот период происходит утолщение, сшивание клеточной стенки. Не исключена также защитная роль маннопротеина по отношению к глюкану. *Candida albicans* проявляют чувствительность к хлоргексидину, формальдегиду, хлоридбензалконию, цетримиду, этанолу.

Механизм резистентности вирусов к дезинфектантам и антисептикам менее изучен по сравнению с бактериями [7]. Резистентность вирусов может формироваться в результате фенотипической или генотипической изменчивости. Фенотипическая изменчивость при включении в состав суперкапсида липо- или гликопротеидов хозяина не имеет наследственного характера. К генотипической изменчивости вирусов относятся мутации и генотипические рекомбинации.

Мутационный процесс у вирусов вне действия мутагена носит спонтанный и индуцированный характер, протекает с высокой частотой, касается многих признаков. Генотипические рекомбинации происходят в процессе перераспределения генетического материала между различными вирусами или между вирусами и клетками хозяев [4].

Большинство исследователей считает, что основным механизмом развития резистентности вирусов к ДС и АС является повреждение генома, а также белкового капсида, вследствие чего теряется репликация вируса и его способность связываться с хозяином. Как упоминается в первых исследованиях, исходя из чувствительности вирусов к ДС, в 1960-1970-х годах был сделан акцент на действии ДС на вирусную оболочку. В дальнейшем было предложено разделить вирусы на три группы по составу капсида: липофильные – содержат в составе оболочки липиды; безоболочечные – гидрофильные (пикорно и другие вирусы) не содержат в составе оболочки липиды; большая нелипидная группа (но не пикорно и другие вирусы). По этой классификации ДС и АС были разделены на две группы:

□ препараты широкого спектра действия, которые инактивируют все вирусы;

□ большая нелипидная группа, не инактивирующая безоболочечные вирусы [8-10].

Правомерным является вывод, что гидрофильные (безоболочечные) вирусы инактивируются в случае повреждения генома (повреждение капсида не является определяющим). Применяются препараты широкого спектра действия. Для инактивации других групп вирусов достаточно повреждения капсида, для этого используются липидные ДС: фенол, фенол, катионные ПАВ, хлоргексидин, изопропанол, эфир, хлороформ. Однако необходимо помнить, что при разрушении оболочки происходит высвобождение нуклеиновых кислот, которые могут сохранять инфекционность.

Дальнейшее расширение изучения вопроса инактивации вирусов дезинфектантами и антисептиками внесло дополнение в механизм инактивации. Периодически стали появляться сообщения с противоречивыми результатами инактивации вирусов ДС (определяющим яв-

ляется повреждение генома или капсида?).

Обзор публикаций, касающихся этого вопроса, позволяет выделить группу работ относительно вирусологического исследования питьевой воды как эпидемически значимого объекта [11-13]. Краткий анализ этих сообщений представлен в работах К. Wiginton и др. [14], Zhong Q. и др. [15]. Авторы пришли к заключению, что до сих пор обсуждаются механизмы инактивации вирусов дезинфектантами, в частности хлорсодержащими.

Среди упомянутых работ следует более детально остановиться на работе Zhong Q. и др. [15]. На модели вируса ECHO11 ее авторы изучали действие следующей группы ДС: свободный хлор – 1-2 мг, ClO_2 – 1,0 мг, УФ-излучение (253,7 нм), солнечный свет (перенос частиц в области 290-315 нм), тепло (38-53°C).

По полученным результатам, ДС были разделены на три группы в зависимости от главной вирусной функции. Тепло инактивирует вирус путем потери связи с хозяином, никакие другие функции в инактивации не участвуют; УФ-излучение и солнечный свет повреждают геном и, следовательно, ингибируют репликацию. Окислители ClO_2 и свободный хлор действуют в основном на функцию связи с хозяином, однако потерю других функций (частичное повреждение генома) нельзя исключить полностью.

Предлагаемые механизмы инактивации в определенной степени согласуются с другими результатами по инактивации энтеровирусов. Так, S. Nuanpuansuwan и D. Cliver [16] продемонстрировали, что тепло и хлор ингибируют связь полиовируса с хозяином. Значительно ранее (1977) Т. Helentjaris and E. Ehrenfeld сообщили [17], что ультрафиолет повреждает ге-

ном, и оценили этот физический агент как весьма перспективный при работе с энтеровирусами.

Выявлено также перекрестную инактивацию вируса при действии всех факторов, за исключением УФ. Ультрафиолет является неселективным ДС, он действует на весь генетический аппарат вируса. Это резко контрастирует с широко используемым хлором, в том числе диоксидом хлора, который в основном нацелен на аминокислоты: цистеин, тирозин, триптофан, гистидин и пролин.

Однако при высоких концентрациях хлорсодержащих ДС наблюдаются также мутации генома. Таким образом, в отличие от Cl₂, ClO₂, вирусы не могут полностью избежать повреждающего действия УФ.

Кроме того, вирусы устойчивы к нескольким ДС. В этих случаях для инактивации предлагается использовать ДС с разными механизмами действия (перекрестная инактивация происходит между ДС с одинаковым механизмом действия).

В итоге при анализе результатов, полученных при действии хлорсодержащих ДС и УФ, авторы пришли к заключению, что происходят множественные мутации в геноме и белках вируса, и этот процесс следует отнести к третьей группе механизмов резистентности.

Из полученных сведений вытекает важный практический вывод: во избежание отрицательного результата, в особенности при дезинфекции такого важного объекта, как вода, необходимо использовать режим двойной дезинфекции, т. е. применять ДС с различными механизмами действия. Например, хлорсодержащие ДС с последующим использованием УФ. Эта рекомендация основана на том, что для хлора геном не является обязательной мишенью.

Таким образом, по механизму действия различные ДС можно разделить на три группы в зависимости от нарушений главной вирусной функции:

□ потеря связи с хозяином, т.е. изменения в оболочке вируса при сохранении геномом своей функции;

□ изменение генома (потеря репликации или сборки вириона);

□ множественные повреждения вируса: деградация генома и потеря других функций.

С целью получения информации о механизмах вирулицидного действия ДС и АС используют

бактериофаги как «индикаторные виды». Бактериофаги рассматривают как простую, но информативную модель [18, 20].

Из группы нерассмотренных вирулицидных ДС следует выделить глутаровый альдегид как наиболее активный по отношению к вирусам. Он оказывает вирулицидное действие на вирусы гепатитов, в частности, снижает активность поверхностного и основного антигенов вируса гепатита В. РНК полиовируса устойчива к альдегиду, но в то же время капсид полиовируса взаимодействует с данным ДС.

Наряду с упомянутыми механизмами резистентности вирусов нельзя не упомянуть о таких естественных процессах, как вирусная агрегация и модификационная адаптация, в результате которых происходит изменение чувствительности к действующему фактору [19, 28].

Кроме изложенных выше механизмов резистентности к действию окружающих факторов, отмечена также фенотипическая изменчивость как следствие пластичности метаболизма микроорганизмов, как реакция (адаптация) на действие факторов. При этом происходящее изменение свойств не носит наследственного характера и исчезает через одно-два поколения.

Одним из проявлений фенотипической изменчивости является образование биопленки, формирующейся после достижения бактериями определенной плотности. Биопленка состоит из микроколоний клеток одного вида, окруженных биополимерным материалом из полисахаридов. В более глубоких слоях пленки могут развиваться такие же образования из других видов. Организация (взаимодействие микроорганизмов) обеспечивает физиологическую и функциональную стабильность, экологическое преимущество микроорганизмов в нише [21-23]. Наряду с этим микроорганизмы снижают чувствительность к физико-химическим факторам, в том числе к дезинфектантам. Причин может быть несколько: ограничение доступа ДС к клеткам внутри биопленки; химическое взаимодействие между ДС и самой биопленкой; образование в биопленке деградирующих ферментов, которые нейтрализуют ДС; генетический обмен между клетками в биопленке; измене-

ние среды. Это вызывает определенные изменения (фенотипические), по которым свойства микроорганизмов в пленках и планктонных клетках отличаются. Образование биопленок рассматривается как одно из проявлений межклеточной коммуникации [4].

Биопленка защищает клетки от действия ДС [22]. Установлено снижение минимальной бактерицидной концентрации (МБК) ЧАС на сальмонеллы в несколько раз. Учитывая, что образование биопленок широко распространено в природе, для дезинфекции определенных предметов, где возможно обрастание, необходимо пересматривать МБК.

Ныне практика располагает обширным набором ДС и АС различных химических классов, появлению которых на рынке предшествует всестороннее изучение их действия на человека, микроорганизмы, экологию. В то же время значительно меньше данных существует о параллельно развивающихся процессах резистентности микроорганизмов. С целью пополнения и обобщения сведений целесообразно проводить периодический анализ научных публикаций, что позволит получить недостающие сведения для решения теоретических и практических вопросов дезинфектологии. Первые исследования в этом направлении появились в 1960-х годах. Наиболее обширные сведения касались *S. aureus*. Причиной более досконального изучения резистентности этого возбудителя стала ведущая роль *S. aureus* в инфекционной заболеваемости (чума XX века, как ее называли в то время). Исследования, проведенные мало используемыми в этой области молекулярно-генетическими методами, определили роль генетической природы резистентности [24].

В дальнейшем было установлено, что резистентность *S. aureus* формируется за счет семейства генов *qas AB*, *qas CD* [25]. Работы, в которых описана роль данных генов резистентности к ДС и АС, обстоятельно представлены в публикациях за 1988-1993 годы. Аналогичный анализ публикаций 1960-2013 годов проведен группой исследователей [26] с целью критически оценить и обобщить данные о распространенности устойчивости бактерий к ДС, о необходимости концентрации наблюдений на таких направлениях, как качественная

оценка результатов, их количественная оценка в определении МБК, разработка единой методики определения резистентности и ряд других. Проанализировано 111 публикаций.

В анализируемых публикациях использованы данные по устойчивости штаммов *Klebsiella*, *P. aeruginosa*, *Acinetobacter*, *S. aureus*, *Enterococcus*. Спектр протестированных ДС состоял из ЧАС, спиртов, бигуанидов, тяжелых металлов, хлор- и кислородсодержащих соединений. Проведена систематизация и практически оценены результаты по определению генов резистентности *qas*, *A*, *B*, *C*, *H*, *Z*, *E*, *ED1*, *smg*.

В этих работах традиционно рассматривается устойчивость *S. aureus* к современным ДС. В популяции стафилококков достаточно полно изучены гены *qas* и *smg*, которые были наиболее ранними находками как гены резистентности к ДС. В группе *qas* широкая распространенность установлена для *qas A*, хотя показатели варьировали от 0,6% до 33,7%. В то же время более низкой она была для *qas C* (5,3-10,8%), *qas H* (3,3-7,1%), а также для гена *qas B* (1,5%). Распространенность генов *smg* также находилась на достаточно высоком уровне. Они идентифицированы в 3,6-44,2% стафилококков.

Исследованию природы резистентности энтерококков, несмотря на их значимость в инфекционной заболеваемости человека, посвящено сравнительно небольшое количество работ. Как и в случае со стафилококком, обнаружен большой разброс данных. Так, гены *qas A*, *B* обнаружены лишь в 0,4%. Ген *smg* также обнаружен в единичных культурах (0,2%). Однако установлено наличие гена *qas Z* в большом количестве – 52%. Между тем авторы подчеркивают, что данный ген относится к числу малоизученных и редко встречающихся. В частности, этот штамм энтерококков проявлял устойчивость к бензалконию хлориду.

В семействе *Enterobacteriaceae* наиболее обширные исследования проведены среди штаммов *Klebsiella*. Этот возбудитель проявил высокую устойчивость (53,1-68,0%) к бензалконию за счет гена *qas DE1*. На высоком уровне находилась также устойчивость, кодируемая геном *qas A* – на уровне 87,5%. Среди других штаммов

Enterobacteriaceae ген *qas ED1* обнаружен в 55-100%. Установлено также, что устойчивость грамотрицательных бактерий к ДС, обусловленная генами *qas ED1*, ассоциирована с резистентностью к ЧАС.

В настоящее время ЧАС нашли широкое применение в медицине и других отраслях за счет своих хороших потребительских свойств. В то же время практика использования ДС на основе ЧАС требует пересмотра ввиду доказанного риска быстрого формирования устойчивости у микроорганизмов. Установлено, что резистентность ассоциирована с присутствием генов *qas A*, *B*, *C* и *smg*. Они кодируют синтез трансмембранных эффлюксных белков, которые обуславливают устойчивость к липофильным катионным веществам, в том числе к ЧАС, а также к красителям. У гена *qas A* обнаружена способность влиять на появление устойчивости к хлоргексидину. В то же время к комбинированным препаратам ЧАС, в состав которых входят этанол, полигуанидин, амины, устойчивости бактерий не обнаружено. Авторы данной публикации также обобщили информацию по обнаружению генов устойчивости *qas* к ЧАС среди стафилококков (от полного отсутствия до весьма высоких значений).

Анализ результатов указанных публикаций свидетельствует о распространенности механизма горизонтальной передачи генов плазмидам. Плазмиды высокоустойчивы к воздействию физических и химических факторов. Благодаря автономной репликации плазмид клетка может содержать множество копий, некоторые из них обеспечивают полирезистентность, а также являются резервуаром передачи другим особям, что обеспечивает им селективное преимущество. Определенную роль играют транспозоны, которые могут переходить из хромосом в плазмиды и привносить гены резистентности.

К числу распространенных механизмов резистентности микроорганизмов к ДС и АС относятся мутации: генная мутация – это изменение первичной структуры ДНК или РНК в клетках, хромосомная заключается в изменении структуры хромосом. Мутации происходят при действии химических, физических и биологических факторов (ионизирующие излучения, УФ-лучи и

др.). При этом происходят замена соединений или изменение структуры, обратимое включение отдельных молекул или их групп, получение дополнительной генетической информации или супермутagens, разрушение ДНК и ряд других [4].

Мутации в генах микроорганизмов являются ответом на действие соответствующих ДС и АС, химический состав которых приводит к изменению в генах и как следствие – к развитию устойчивости. Мутации проявляются в изменении клеточной оболочки, уменьшении поглощения ДС или АС, изменении белков внешней мембраны, модификации мишени, активации механизмов эффлюкса. Мутационная активность наиболее часто устанавливается при действии хлоргексидина, глутарового альдегида и других альдегидов.

При анализе публикаций возник весьма важный и дискуссионный вопрос: совпадает ли резистентность к антибиотикам с резистентностью к ДС и АС? Несмотря на множество публикаций по этому вопросу среди исследователей до сих пор нет единого мнения. Разноречивые результаты решения этого вопроса имеют на сегодня давнюю историю.

Так, Негрихо I. и др. [27] ссылаются на мнение такого авторитетного ученого, как A. Rassel [28], который до 2000 г. отрицал эту зависимость, но уже в 2002 г. [29, 30] обратил внимание на возможную перекрестную резистентность между ДС и антибиотиками у микроорганизмов. В этой же работе приведены ссылки на множество других исследований с различными результатами [31, 32, 33]. Авторы [27] провели обстоятельные наблюдения в этом направлении. Работа выполнена с использованием широкого спектра антибиотиков [13], ДС и АС [4], различных видов микроорганизмов [13] по единой методике. При этом штаммы микроорганизмов были выделены от большого одного учреждения. Все полученные результаты вычислены с использованием одно-, двух- и многофакторного анализа (линейная и логистическая регрессия). В результате установлено, что только у 4,6% пар антибиотиков и ДС выявлена взаимосвязь. При этом найденные корреляции в большей мере зависели от природной, а не приобретенной устойчиво-

сти. Более того, в ряде случаев авторы наблюдали обратную корреляцию: антибиотикорезистентные бактерии более чувствительны к ДС. На основании собственных результатов исследователи пришли к весьма ответственному заключению: несмотря на постоянную циркуляцию антибиотикорезистентных возбудителей инфекционной заболеваемости нет оснований изменять существующий в данном лечебном учреждении график использования ДС.

Morrissey I. и др. [34] при исследовании штаммов из многих стран обнаружили большую восприимчивость антибиотикорезистентного *S. aureus* к хлоргексидину и бензалкония хлориду по сравнению с *K. pneumoniae*, *E. coli* и *Enterobacter*. Результаты Veier R.C. и др. [35] также посвящены этому сложному и весьма важному вопросу о корреляции резистентности к бактериям и к ДС. Искомая связь не была обнаружена. Не установлена связь резистентности с антибиотиками и ДС по данным Алексеевой И.Г. и соавт. [36].

Однако полученные результаты не совпадают с мнением ряда исследователей по этому вопросу. В работе Smith L. et al. [37] показано, что штамм *E. coli*, устойчивый к ДС «Lysol» (состоит из спиртов и ЧАС), по сравнению с чувствительными к ДС штаммами *E. coli*, содержит пептид ~100 Д, тогда как чувствительные к ДС штаммам *E. coli* содержат пептид ~130 Д. Авторы считают, что изменения в экспрессии генов лежат в основе устойчивости к ДС. Получены также данные о наличии корреляции между антибиотикорезистентностью *E. coli* и устойчивостью к ДС «Lysol» (использовано 19 видов антибиотиков).

Столь противоречивые данные могут быть объяснены отсутствием единой методики проведения опытов и анализа результатов, штаммовыми различиями, качеством использованных антибиотиков, ДС и др.

При сравнении механизмов резистентности микроорганизмов к антибиотикам и дезинфектантам находим много общего, что может свидетельствовать в пользу корреляции этих процессов. Возникает вопрос о частоте (количестве) тех и других механизмов, т.е. соотношении количество-качество. Некоторые вопросы можно объяснить, если обратиться к истории развития резистентно-

сти. Параллельное сосуществование микроорганизмов и антибиотических соединений, которые являются продуцентами биоты (в наибольшей степени почвы), сопровождалось одновременным развитием механизмов резистентности как природных процессов самосохранения. ДС и АС являются (при небольшом исключении) искусственно полученными соединениями, чужеродными для живых существ и не включенными в биотический круговорот. Имеет место также временное ограничение взаимодействия микроорганизмов и ДС в историческом аспекте по сравнению с аналогичным процессом между микроорганизмами и антибиотиками. Это не может не отразиться не только на разнообразии механизмов, но и на их количественном выражении. С точки зрения роли этих процессов в патологии человека значение имеет соотношение микроорганизм – антибиотик – ДС.

Как правило, отсутствие общепризнанного решения какого-либо вопроса побуждает появление дискуссий, новых, зачастую оригинальных идей. В качестве примера можно привести гипотетическую модель формирования резистентности бактерий, основанную на принципах супрамолекулярной химии [38]. Весьма привлекательна модель авторов о возможности конструирования направленного мутагенеза, обеспечивающего химическую мутацию, которая может быть «весьма полезной».

Безусловно, изложенная авторами гипотеза имеет право на свое дальнейшее развитие. Считаю, что принципы супрамолекулярной химии в биологии помогают понять процессы формирования межклеточных сообществ от простых к более сложным супрамолекулярным ансамблям с последующим проявлением этих процессов на более высоких уровнях: межклеточная коммуникация и организация колоний микроорганизмов.

В развитии механизмов резистентности группой ученых-микробиологов [39] предложена классификация резистентности на основе комплексной устойчивости ДС с другими антимикробными соединениями:

- устойчивость к одному ДС;
- устойчивость к другим ДС.

В этом виде комплексной устойчивости выделили

□ перекрестную – устойчивость к различным ДС, относящимся к одной группе химических соединений на основе одного активно действующего вещества (АДВ);

□ ассоциированную – устойчивость к ДС, относящихся к разным группам химических соединений АДВ;

□ сочетанную – устойчивость к двум и более ДС из одной группы химических соединений, но с различными АДВ;

□ комбинированная устойчивость.

По их данным, монорезистентность обнаружена у 69,7% исследованных штаммов микроорганизмов; сочетание к двум ДС – у 79,2%, к трем ДС – у 20,8%. Комбинированная резистентность установлена среди полирезистентных бактерий к антибиотикам – 32,7% устойчивых к ДС; в числе устойчивых к ДС, но чувствительных к антибиотикам – 5,1%. Наиболее высокая резистентность выявлена к ЧАС, а также в комбинации ЧАС с третичными аминами [40].

Большинство исследователей, изучающих резистентность микроорганизмов, особенно к ДС и АС, считает причиной разброса данных отсутствие унифицированной методики и критериев оценки результатов. Среди них многие склонны считать наиболее точными генетические методы. Однако в настоящее время генетические методы не получили должного распространения и практического внедрения. Повсеместно применяется классический микробиологический метод наиболее вероятного числа: количество – качественный и количественный в различных вариантах. Для определения резистентности используются штаммы микроорганизмов, выделенные в местах применения того или иного ДС либо АС [41-44]. Относительно выбора штамма для исследования имеется ряд других рекомендаций. West A.M. и др. [45] определяли различную эффективность ДС между штаммами одного и того же вида микроорганизмов, в частности *S. aureus* и *P. aeruginosa*, даже при строгом соблюдении концентрации и времени контакта, обозначенных в соответствующей инструкции. Авторы предложили использовать несколько штаммов для испытания активности ДС, что позволит получить более достоверные ре-

зультаты для данного вида микроорганизмов. Рекомендуется также обращать особое внимание на объект дезинфекции, необходимость строгого соблюдения режима дезинфекции, особенно при дезинфекции медаппаратуры [45].

Для изучения механизмов действия АС и ДС на микроорганизмы не менее важно иметь набор методов, позволяющих определять структурные или биохимические изменения микроорганизмов [2].

В настоящее время имеется следующий арсенал методов: поглощение и эффлюкс агента, толщина и пористость оболочки, эффекты на мембраны, лизис и утечка внутриклеточных компонентов, ингибирование ферментов, окислительное фосфорилирование, взаимодействие с макромолекулами, взаимодействие процессов биосинтеза, концентрация ДС и АС, электронная микроскопия.

Наиболее используемыми генетическими методами являются следующие: полимеразная цепная реакция (ПЦР), метод молекулярной гибридизации, рестрикторный анализ, риботипирование [4].

В представленной статье кратко изложены механизмы резистентности микроорганизмов к ДС и АС. На основании доступных нам публикаций, монографий, методических материалов сделан вывод прежде всего о разобщении показателей резистентности среди отдельных видов микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам. Одной из причин указанного является недостаточность исследований в этой области (научных наработок и практических наблюдений). Известны стандарты ЕС относительно оценки активности ДС и АС. Стремление к разработке подобных стандартов по определению резистентности к ДС и АС даст возможность не только получать достоверные сравнимые сведения по распространенности резистентности, но и будет способствовать разработке новых антисептиков и дезинфектантов, что особенно важно в эпоху роста антибиотикорезистентности.

В заключение следует обратить внимание на необходимость осуществлять систематические обзоры по устойчивости микроорганизмов к ДС и АС, а также иметь широкий доступ к источникам информации.

ЛИТЕРАТУРА

1. WHO. Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014. URL : <http://www.who.int/drugresistance/document/surveillancereport/en>.
2. McDonnell G., Russell A.D. Antiseptics and Disinfectants: Activity, Action and Resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999. Vol. 12 (1). P. 147-179. DOI: 10.1128/CMR.12.1.147
3. Sheldon A.T. Antiseptics «resistance» – real or perceived threat? *Clin Infect Dis*. 2005. Vol. 40. P. 1650-1656. DOI: 10.1086/430063
4. Мікробіологія, вірусологія, імунологія : підручник для студентів вищих медичних навчальних закладів / за ред. В.П. Широкова. Вінниця : Нова книга, 2011. 952 с.
5. Шлегель Г., Шмидт К. Общая микробиология : пер. с нем. М. : Мир, 1987. 567 с.
6. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / под ред. В.И. Покровского). М. : ГЭОТАР-мед, 2012. 768 с.
7. Райнбабен Ф., Вольф К.Г. Основы противовирусной дезинфекции : пер. с нем. М. : Летний сад, 2014. 552 с.
8. Klein M., Deforest A. Antiviral Action of Germicides. *Soap Chem Spec*. 1963. Vol. 39. P. 70-72.
9. Klein M., Deforest A. Principles of Viral Inactivation. *Disinfection, Sterilization and Preservation* / Block S.S. (ed.). Philadelphia, Pa : Lea & Febiger, 1983. P. 422-434.
10. Tyler R., Ayliffe G.A., Bradley C. Virucidal Activity of Disinfectants: Studies with the Poliovirus. *J. Hosp Infect*. 1990. Vol. 15. P. 339-345.
11. WHO. Guidelines for Drinking-Water Quality: 3-rd ed. Incorporating 1-st and 2-nd Addenda, Vol. 1, Recommendations. Geneva : WHO, 2008. URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/fulltext.pdf.
12. Сердюк А.М., Гоженко А.І., Мокієко А.В., Петренко Н.Ф. Питна вода та інфекційні хвороби: аналітичне та концептуальне дослідження ризику для здоров'я (огляд літератури та власних досліджень). *Журнал Академії медичних наук*. 2008. Т. 14, № 4. С. 705-718.
13. Задорожна В.І. Сучасний погляд на ентеровіруси та фактори їх передачі (огляд літератури та власних досліджень). *Довкілля та здоров'я*. 2012. № 4. С. 49-54.
14. Wigginton K.R., Pecson B., Sigstam T., Bosshard F., Kohn T. Virus Inactivation Mechanisms: Impact of Disinfectants on Virus Function and Structural Integrity. *Environ. Sci. Technol*. 2012. Vol. 46 (21). P. 12069-12078. doi: 10.1021/es3029473.
15. Zhong Q., Carratala A., Ossola R., Bachmann V., Kohn T. Cross-Resistance of UV- or Chlorine Dioxide-Resistant Echovirus 11 to Other Disinfectants. *Front. Microbiol*. 2017. № 8. P.1928. doi: 10.3389/fmicb.2017.01928
16. Nuannualsuwan S., Cliver D.O. Capsid Functions of Inactivated Human Picornaviruses and Feline Calicivirus. *Appl. Environ. Microbiol*. 2003. Vol. 69 (1). P. 350-358. DOI: 10.1128/aem.69.1.350-357.2003
17. Helentjaris T., Ehrenfeld E. Inhibition of Host Cell Protein Synthesis by UV-Inactivated Poliovirus. *J. Virol*. 1977. Vol. 21 (1). P. 259-67.
18. Davies J.G., Babb J.R., Bradley C.R., Ayliffe G.A. Preliminary Study of Test Methods to Assess the Virucidal Activity of Skin Disinfectants Using Poliovirus and Bacteriophages. *J. Host Infect*. 1993. Vol. 25 (2). P. 125-131.
19. Keswick B.H., Satterwhite T.K., Johnson P.C., DuPont H.L., Secor S.L. et al. Inactivation of Norwalk Virus in Drinking Water by Chlorine. *Appl Environ Microbiol*. 1985. Vol. 50 (2). P. 261-264.
20. Harakeh S. Inactivation of Enteroviruses, Rotaviruses, Bacteriophages by Peracetic Acid in a Municipal Sewage Effluent. *FEMS Microbiology Letters*. 1984. Vol. 23 (1). P. 27- 30. doi.org/10.1111/j.1574-6968.1984.tb01029.x
21. Морозова Н.С., Мариєвський В.Ф. Дезинфектологічні проблеми боротьби с біопленкою. *Профілактична медицина*. 2009. № 2. С. 3-7.
22. Мариєвський В.Ф., Бувало В.О., Кроловецька Н.М., Рубан Н.М., Дяченко О.П., Матюшко Г.В. До питання про чутливість: стійкість біоплівки сальмонел до дії дезінфектантів. *Запорозький медичинський журнал*. 2013. № 5. С. 80-83.
23. Gorman S.P. Microbial Adherence and Biofilm Production. *Mechanisms of Action of Chemical Biocides : their Study and Exploitation. The Society for Applied Bacteriology. Technical Series № 27*. Oxford, 1991. P. 271-295.

24. Sasatsu M., Shirai Y., Hase M., Noguchi N., Kono M., Behr H. et al. The Origin of the Antiseptic-Resistance Gene EBR in *Staphylococcus aureus*. *Microbios*. 1995. Vol. 84 (340). P. 161-169.
25. Leelaporn A., Firth N., Paulsen I.T., Skurray R.A. IS257-mediated cointegration in the evolution of a family of staphylococcal trimetroprim resistance plasmids. *J. Bacteriol.* 1996. Vol. 178 (20). P. 6070-6073.
26. Салеркин Н.В., Алебашина Г.А., Квашина Д.В. Устойчивость бактерий к дезинфектантам: оценка доказательной базы. *Современные проблемы науки и образования*. 2016. № 5. URL : <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25429>
27. Herruxo I., Herruxo R., Vizcaino M.J. Is there a correlation between antibiotic resistance and decreased susceptibility to biocides different genus of bacterial genera. *J. Antibiot. Res.* 2015. Vol. 1 (1). doi: 10.15744/2574-5980.1.102
28. Russel A.D. Mechanisms of bacterial resistance to biocides. *Intern Biodeterior & Biodegrad.* 1995. Vol. 36. P. 247-65. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00056-9](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00056-9)
29. Russel A.D. Do biocides select for antibiotics resistance? *J. Pharmacy Pharmacol.* 2000. Vol. 52 (2). P. 227-233.
30. Russel A.D. Antibiotic and biocide resistance in bacteria: introduction. *J. Appl. Microbiol.* 2002. Vol. 92. P. 355-362.
31. Walsh T.R., Weeks J., Livermore D.M., Toleman M.A. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implication for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect Dis.* 2011. Vol. 11 (5). P. 355-362.
32. Cabrera CE., Gomez R.F., Zuniga A.E. La resistencia de bacterias a antibioticos, antisepticos y desinfectantes una manifestacion de los mecanismos de supervivencia y adaptacion. *Colombia Med.* 2007. Vol. 38. P. 149-158.
33. Brooks S.E., Walczak M.A., Nameed R., Coonan P. Chlorhexidine resistance in antibiotic-resistant bacteria isolated from the surfaces of dispensers of soap containing chlorhexidine. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002. Vol. 23. P. 692-695.
34. Morrissey I., Oggioni M.O., Khigh D., Curiao T., Kalkanci A., Martinez J.L. Evaluation of Epidemiological Cut-Off Values Indicates that Biocide Resistant Subpopulations Are Uncommon in Natural Isolates of Clinically-Relevant. *PLoS One.* 2014. Vol. 9 (1). e86669. DOI:-2014 10.1371/journal.pone.0086669.
35. Beier R.C., Pool T.L., Brichtha-Hardy D.M., Anderson R.C., Bieschoff K.M., Hernandez C.A. et al. Disinfectant and Antibiotic Susceptibility Profiles of *Esherrichia coli* O157:H7 Strains from Cattle Carcasses, and Hides and Ground Beef from the United States. *J. Food Prot.* 2013. Vol. 76 (1). P. 6-17.
36. Алексеева И.Г., Благонравова А.С., Ковалишена О.В. Сравнительная характеристика полиантибиотикорезистентности и устойчивости к дезинфектантам возбудителей внутрибольничных инфекций. *Ремедиум. Поволжье*. 2010. № 1. С. 48-50.
37. Smith L.S., Rastogi V.K., Wallance L. Adaptive Mechanisms Underlying Microbial Resistance to Disinfectants. Defense Threat Reduction Agency, February 2016. URL : <https://apps.dtic.mil/dtic/tr/fulltext/u2/1002922.pdf>
38. Мокиенко А.В., Петренко Н.Ф., Гоженко А.И. Адаптивная мультирезистентность бактерий: вклад в эволюцию эпидемического процесса. *Профілактична медицина*. 2011. № 2. С. 90-95.
39. Шкарин В.В., Благонравова А.С., Ковалишена О.В. Современные представления о механизмах устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам. *Эпидемиология и инфекционные болезни*. 2011. № 3. С. 48-54.
40. Благонравова А. С. Научные, методические и организационные основы мониторинга устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам в рамках эпидемиологического надзора : дисс. ... доктора мед. наук. Нижний Новгород, 2012. 305 с.
41. Марієвський В.Ф., Покас О.В., Морозова Н.С. та ін. Спосіб визначення чутливості бактерій до дезінфікуючих засобів : метод. рек. / ДУ «Ін-т епідеміології та інфекційних хвороб імені Л.В. Громашевського НАМН України»; Харків. мед. акад. післядипломної освіти. Київ : Знання України, 2017. 11 с.
42. Оценка чувствительности к дезинфицирующим средствам микроорганизмов, циркулирующих в медицинских организациях : метод. указания МУ 3.5.1.3439-17. 3.5.1. М. : Роспотребнадзор РФ, 2017. 18 с. URL : https://www.rospotreb-nadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=8723
43. US EPA. Standard Operating Procedure for AOAC Use Dilution Method for Testing Disinfectants : MB-05-14. URL : <https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-08/document/mb-05-14.pdf>
44. US EPA. Standard Operating Procedure for OECD Quantitative Method for Evaluating Bactericidal and Mycobactericidal Activity of Microbicides Used on Hard, Non-Porous Surfaces. SOP Number: MB-25-05. URL : <https://www.epa.gov/pesticide-analytical-methods/antimicrobial-testing-testing-mb-25-04>
45. West A.M., Strain P.J., Teska P., Lineback C.B., Oliver H.F. Disinfectant, concentration and contact time quantitatively impact disinfectant efficacy. *Antimicrobial Resistance and Infection Control.* 2018. Vol. 7. P. 49-56. doi: 10.1186/s13756-018-0340-2

REFERENCES

1. WHO. Antimicrobial Resistance: Global Report on Surveillance 2014. URL : <http://www.who.int/drugresistance/document/surveillance-report/en>.
2. McDonnell G. and Russell A.D. *Clinical Microbiology Reviews*. 1999 ; 12 (1) : 147-179. DOI: 10.1128/CMR.12.1.147
3. Sheldon A.T. *Clin Infect Dis.* 2005 ; 40 : 1650-1656. DOI: 10.1086/430063
4. Shyrobokov V.P. (ed.) *Mikrobiologhiia, virusologhiia, imunologhiia : pidruchnyk [Microbiology, Virology, Immunology ; Manual]*. Vinnytsia : Nova Knyha; 2011 : 952 p. (in Ukrainian).
5. Schlegel H.-G. and Schmidt K. *Allgemeine Mikrobiologie*. Thieme; 1985 : 571 p.
6. Pozdeev O.K. [Pokrovskii V.I. (ed.)] *Meditsinskaia mikrobiologhiia [Medical Microbiology]*. Moscow : GEOTAR-med ; 2012 : 768 p. (in Russian).
7. Rheinbaben F. and Wolff M.H. *Handbuch der viruswirksamen Desinfektion*. Springer; 2002 : 509 s. DOI 10.1007/978-3-642-56394-2
8. Klein M. and Deforest A. *Antiviral Action of Germicides. Soap Chem Spec.* 1963; 39 : 70-72.
9. Klein M. and Deforest A. *Principles of Viral Inactivation*. In :

- Disinfection, Sterilization and Preservation* / Block S.S. (ed.). Philadelphia : Lea & Febiger; 1983 : 422-434.
10. Tyler R., Ayliffe G.A., Bradley C. Viricidal Activity of Disinfectants: Studies with the Poliovirus. *J. Hosp Infect.* 1990 ; 15 (4) : 339-345.
11. WHO. Guidelines for Drinking-Water Quality: 3-rd ed. Incorporating 1-st and 2-nd Addenda, Vol. 1, Recommendations. Geneva : WHO; 2008. URL: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/fulltext.pdf.
12. Serdiuk A.M., Hozhenko A.I., Mokiienko A.V. and Petrenko N.F. *Zhurnal Akademii medychnykh nauk Ukrainy.* 2008 ;14 (4) : 705-718 (in Ukrainian).
13. Zadorozhna V.I. *Dovkillia ta zdorovia.* 2012 ; 4 : 49-54 (in Ukrainian).
14. Wigginton K.R., Pecson B., Sigstam T., Bosshard F. and Kohn T. *Environ. Sci. Technol.* 2012 ; 46 (21) : 12069-12078. doi: 10.1021/es3029473.
15. Zhong Q., Carratala A., Ossola R., Bachmann V. and Kohn T. *Front. Microbiol.* 2017 ; 8 : 1928. doi: 10.3389/fmicb.2017.01928
16. Nuannualsuwan S. and Cliver D.O. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003 ; 69 (1) : 350-358. DOI: 10.1128/aem.69.1.350-357.2003
17. Helentjaris T. and Ehrenfeld E. *J. Virol.* 1977 ; 21 (1) : 259-67.
18. Davies J.G., Babb J.R., Bradley C.R. and Ayliffe G.A. *J. Host Infect.* 1993 ; 25 (2) : 125-131.
19. Keswick B.H., Satterwhite T.K., Johnson P.C., DuPont H.L., Secor S.L. et al. *Appl Environ Microbiol.* 1985 ; 50 (2) : 261-264.
20. Harakeh S. *FEMS Microbiology Letters.* 1984 ; 23 (1) : 27-30. doi.org/10.1111/j.1574-6968.1984.tb01029.x
21. Morozova N.S. and Mariyevskiy V.F. *Profilaktychna medytsyna.* 2009 ; 2 : 3-7 (in Russian).
22. Mariievskiy V.F., Buvalo V.O., Krolevetska N.M., Ruban N.M., Diachenko O.P. and Matiushko H.V. *Zaporozhskiy meditsynskiy zhurnal.* 2013. № 5. C. 80-83. URL : http://nbuv.gov.ua/UJRN/Zmzh_2013_5_24 (in Ukrainian).
23. Gorman S.P. Microbial Adherence and Biofilm Production. In: *Mechanisms of Action of Chemical Biocides : their Study and Exploitation. The Society for Applied Bacteriology. Technical Series № 27.* Oxford; 1991: 271-295.
24. Sasatsu M., Shirai Y., Hase M., Noguchi N., Kono M., Behr H. et al. *Microbios.* 1995 ; 84 (340) : 161-169.
25. Leelaporon A., Firth N., Paulsen I.T. and Skurray R.A. *J. Bacteriol.* 1996 ; 178 (20) : 6070-6073. DOI:10.1128/jb.178.20.6070-6073.1996
26. Saperkin N.V., Alebshina G.A. and Kvashina D.B. *Современные проблемы науки и образования.* 2016 ; 5. URL : <https://www.science-education.ru/ru/article/view?id=25429>
27. Herruxo I., Herruxo R. and Vizcaino M.J. *J. Antibiot. Res.* 2015 ; 1 (1) : 102. doi: 10.15744/2574-5980.1.102
28. Russel A.D. *Intern Biodeterior & Biodegrad.* 1995; 36 : 247-65. [https://doi.org/10.1016/0964-8305\(95\)00056-9](https://doi.org/10.1016/0964-8305(95)00056-9)
29. Russel A.D. *J. Pharmacy Pharmacol.* 2000 ; 52 (2) : 227-233.
30. Russel A.D. *J. Appl. Microbiol.* 2002 ; 92 : 355-362.
31. Walsh T.R., Weeks J., Livermore D.M. and Toleman M.A. *Lancet Infect Dis.* 2011 ; 11 (5) : 355-362.
32. Cabrera CE., Gomez R.F. and Zuniga A.E. *Colombia Med.* 2007 ; 38 : 149-158 (in Spanish).
33. Brooks S.E., Walczak M.A., Hameed R. and Coonan P. Chlorhexidine resistance in antibiotic-resistant bacteria isolated from the surfaces of dispensers of soap containing chlorhexidine. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2002. Vol. 23. P. 692-695. doi:10.1086/501996
34. Morrissey I., Oggioni M.O., Khigh D., Curiao T., Kalkanci A. and Martinez J.L. *Los One.* 2014 ; 9 (1) : e86669. DOI:-2014 10.1371/journal.pone.0086669.
35. Beier R.C., Pool T.L., Brichta-Hardy D.M., Anderson R.C., Bieschoff K.M., Hernandez C.A. et al. *J. Food Prot.* 2013. Vol. 76 (1). P. 6-17. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-253.
36. Alekseeva I.G., Blagonravova A.S. and Kovalishena O.V. *Remedium Privolzhe.* 2010 ; 1 : 48-50 (in Russian).
37. Smith L.S., Rastogi V.K. and Wallace L. Adaptive Mechanisms Underlying Microbial Resistance to Disinfectants. Defense Threat Reduction Agency, February 2016. URL : <https://apps.dtic.mil/dtic/tr/fulltext/u2/1002922.pdf>
38. Mokienko A.V., Petrenko N.F. and Hozhenko A.I. *Profilaktychna medytsyna.* 2011 ; 2 : 90-95 (in Russian).
39. Shkarin V.V., Blagonravova A.S. and Kovalishena O.V. *Epidemiologiya I infektsionnye bolezni.* 2011; 3 : 48-54 (in Russian).
40. Blagonravova A.S. Nauchnye, metodicheskie I organizatsionnye osnovy monitoring ustoichivosti mikroorganizmov k dezinfitsiruyushchim sredstvam v ramkakh epidemiologicheskogo nadzora : diss. ... doktora med. nauk [Scientific, Methodological, and Organizational Foundations for the Monitoring of the Resistance of Microorganisms to the Disinfectants within the Epidemiological Surveillance: Diss. ... Dr. Med. Sciences]. Nizhniy Novgorod ; 2012 : 305 p. (in Russian).
41. Mariievskiy V.F., Pokas O.V., Morozova N.S. et al. Sposib vyznachennia chutlyvosti bakterii do dezinfikiuyuchykh zasobiv : metodychni rekomendatsii [Method for the Determination of the Sensitivity of Bacteria to the Disinfectants: Method Recommendations]. Kyiv : Znannia Ukrainy ; 2017: 11p. (in Ukrainian).
42. Otsenka chuvstvitelnosti k dezinfitsiruiushchim sredstvam mikroorganizmov, tsirkuliruiushchikh v meditsynskikh organizatsiiakh : metodicheskie ukazaniya MU 3.5.1.3439-17.3.5.1 [Evaluation of the Sensitivity to the Disinfectants of Microorganisms Circulating in Medical Institutions: Guidelines MU 3.5.1.3439-17.3.5.1]. Moscow : Rospotrebnadzor RF; 2017 : 18 p. URL : https://www.rospotrebnadzor.ru/documents/details.php?ELEMENT_ID=8723 (in Russian).
43. US EPA. Standard Operating Procedure for AOAC Use Dilution Method for Testing Disinfectants : MB-05-14. URL : <https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-08/document/mb-05-14.pdf>
44. US EPA. Standard Operating Procedure for OECD Quantitative Method for Evaluating Bactericidal and Mycobactericidal Activity of Microbicides Used on Hard, Non-Porous Surfaces. SOP Number : MB-25-05. URL : <https://www.epa.gov/pesticide-analytical-methods/antimicrobial-testing-testing-mb-25-04>
45. West A.M., Strain P.J., Teska P., Lineback C.B. and Oliver H.F. *Antimicrobial Resistance and Infection Control.* 2018 ; 7 : 49-56. doi: 10.1186/s13756-018-0340-2

Надійшла до редакції 12.06.2019