

**А.Г. Салманов**

Національна медична академія післядипломної освіти
імені П.Л. Шупика, Київ, Україна

Резистентність до антибіотиків та біоцидів

Реферат

Резистентність бактеріальної патогенної мікрофлори до антибіотиків збільшується, що призводить до терапевтичних невдач при лікуванні інфекційних захворювань людини і тварин. Це спостерігається в усіх країнах. Бактерії здатні швидко адаптуватися до нових умов довкілля та виживають при впливі протимікробних засобів завдяки розвитку різних механізмів резистентності. Резистентність бактерій до дії протимікробних засобів зростає пропорційно збільшенню застосування засобів протимікробної дії. На відміну від проблеми резистентності до антибіотиків, актуальність проблеми стійкості бактерій до біоцидів встановлено відносно недавно.

Деякі механізми резистентності до біоцидів та антибіотиків є спільними. Результати бактеріологічних, біохімічних та генетичних досліджень свідчать про те, що застосування активних молекул у продуктах біоцидної дії може призвести до збільшення кількості штамів бактерій, резистентних до антибіотиків. Селективний стрес, спричинений впливом біоцидів, може зумовлювати виникнення нових механізмів резистентності бактерій та їх поширення. Деяким біоцидам притаманна властивість сприяти збереженню мобільних генетичних елементів, носіїв генів, які кодують перехресну резистентність до біоцидів та антибіотиків. Поширення цих мобільних елементів, їх генетична організація та здатність до накопичення в біоплівках забезпечують умови, в яких підвищується потенційний ризик розвитку перехресної резистентності до антибіотиків та біоцидів.

Через недостатність точних даних, зокрема щодо кількості антибіотиків та біоцидів, які використано, неможливо визначити, які саме біоциди найбільше підвищують ризик виникнення резистентності до антибіотиків. Припускають, що механізм розвитку резистентності бактерій запускається завдяки горизонтальній передачі генів та паралельному каскаду регулюючих сигналів, стимульованих впливом хімічних сполук, які діють як біоциди. Необхідно провести додаткові дослідження для визначення механізмів розвитку перехресної резистентності, виникнення резистентних до антибіотиків бактерій під впливом біоцидів у різних галузях їх застосування (наприклад, у медицині, ветеринарії, харчовій промисловості, при виготовленні косметичної продукції та інших споживчих товарів).

Ключові слова: антибіотики, біоциди, резистентність, бактерії.

Посилання: Салманов А.Г. Резистентність до антибіотиків та біоцидів. *International Journal of Antibiotics and Probiotics*. 2017 Dec; 1 (2): 92-125.

ВСТУП

Протягом останнього десятиріччя резистентність патогенної бактеріальної мікрофлори до антибіотиків, спричинена різними чинниками, збільшилася, що призводить до терапевтичних невдач при лікуванні інфекційних захворювань людини та тварин. Це спостерігають у всіх країнах [1—5].

Бактерії здатні швидко адаптуватися до нових умов довкілля, зокрема, до зумовлених наявністю молекул протимікробної дії, внаслідок чого їх резистентність зростає паралельно збільшенню впливу протимікробних засобів [6]. Викликає стурбованість збільшення резистентності нозокоміальних, позалікарняних та харчових патогенних організмів до антибіотиків

протягом останніх років. Цю проблему розглядають як на національному, так і на міжнародному рівні [1, 3—6].

Молекули з протимікробними властивостями входять до складу антибіотиків та біоцидів, які чинять бактерицидний/бактеріостатичний вплив на клітини бактерій. У літературі описано численні механізми виникнення резистентності до антибіотиків, тоді як вивчати механізми розвитку стійкості до інших біоцидів почали відносно недавно.

Біоцидам та антибіотикам притаманні деякі спільні властивості, на яких ґрунтується їх протимікробна дія. Відомі спільні механізми резистентності клітин бактерій до обох видів протимікробних речовин [7—9]. Важливим завданням є визначення ризику селективного впливу біоцидів на клітини бактерій, унаслідок чого виникає резистентність до антибіотиків, а також зумовленого цими процесами ризику для здоров'я людини. Розуміння механізмів селекції та поширення патогенних мікроорганізмів, резистентних до біоцидів, має важливе значення для боротьби з поширенням внутрішньолікарняних захворювань, а також з патогенними мікроорганізмами, носіями яких є продукти харчування.

З урахуванням широкого застосування антибіотиків та біоцидів у різних галузях (медицина, ветеринарія, харчова промисловість, сільське господарство тощо), а також постійного зростання резистентності, бракує інформації та методології для чіткої ідентифікації ризиків, спричинених безсистемним застосуванням антимікробних препаратів (антибіотиків та біоцидів).

Вартість ринку біоцидів у країнах Європейського Союзу (ЄС) щороку становить 10—11 млрд євро. Очікується подальше збільшення ринку біоцидів [4]. Чи існує небезпека виникнення бактерій, резистентних до дії протимікробних препаратів, через застосування біоцидів? У доступній літературі цим питанням приділено недостатню увагу, інформація є обмеженою або взагалі відсутня.

Мета роботи — проаналізувати дані літератури щодо виникнення резистентності бактерій до антибіотиків і біоцидів та визначити можливості перехресної резистентності внаслідок їх широкого використання.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

У доступній літературі виявлено 306 джерел, в яких висвітлено проблему резистентності бактерій до антибіотиків та біоцидів. Вивчено та залучено до метааналізу результати наукових досліджень, які описано у 243 статтях,

опублікованих у період з 1995 до 2016 рр. Особливу увагу приділяли питанням, щодо яких інформація є обмеженою або взагалі відсутня, тобто вони потребують проведення додаткових досліджень. Пошук матеріалу здійснювали за допомогою всесвітньої мережі Інтернет в електронних базах даних Medline, Pubmed, WHO, CDC, ECDC, Національної наукової медичної бібліотеки України та Національної бібліотеки України імені В.І. Вернадського.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Проблеми резистентності мікроорганізмів до антимікробних (антибіотиків та біоцидів) препаратів розглядали багато дослідників. Спостерігається великий інтерес до проблеми резистентності бактерій до антисептиків та дезінфікуючих засобів, які разом з консервантами позначають терміном «біоциди» [1—5].

Згідно з визначенням, яке міститься у Директиві 98/8/ЄС Європейського парламенту та Ради Європи від 16 лютого 1998 р., біоцидні продукти — це активні речовини та препарати, які містять одну активну речовину або більше, вироблені у формі, в якій їх постачають споживачу, призначені для знищення, знешкодження, перешкоджання дії або забезпечення в інший спосіб контролю будь-яких шкідливих мікроорганізмів за рахунок хімічного або біологічного впливу. У цьому документі активні речовини класифіковано на такі, котрі мають властивості, які можуть небажано впливати на організм людини і тварин або довкілля, або позбавлені їх.

У метааналізі використано такі визначення:

- *біоциди* — активні хімічні молекули в складі продукту біоцидної дії, призначені для контролю за розмноженням або знищення бактерій;
- *антибіотики* — активні речовини синтетичного або природного походження, призначені для ерадикації бактеріальної інфекції людини або тварин;
- *протимікробна активність* — інгібувальний або летальний вплив біоцидного продукту або антибіотика;
- *селективний тиск* — хімічні, фізичні та біологічні чинники або обмеження, під впливом яких утворюються добре адаптовані бактерії або які сприяють активації специфічних біологічних механізмів, котрі зумовлюють відповідь бактеріальних клітин на зовнішні чинники.

Є декілька визначень резистентності до протимікробних біоцидів та/або антибіотиків. Резистентність — це здатність бактерій витримувати шкідливий вплив протимікробної речовини. Наведені в цьому метааналізі визначення було

запропоновано J. Chapman та співавт. [10, 11], A. Russell та співавт. [7] і T. Cloete [12].

На практиці термін «резистентність до антибіотиків» застосовують для опису ситуацій, коли: а) штам не гине або інгібування подальшого розмноження клітин не забезпечується концентраціями, досягнутими *in vivo*, б) штам не гине або інгібування подальшого розмноження клітин не забезпечується концентраціями, до яких більшість штамів цього виду мікроорганізмів є чутливими, в) клітини бактерій не гинуть або інгібування їх подальшого розмноження не забезпечується концентраціями, активними щодо більшості клітин цієї культури.

Якщо йдеться про речовини протимікробної дії, які не належать до антибіотиків (тобто біоциди), то термін «резистентність» застосовують для опису ситуацій, коли штам не гине або інгібування подальшого розмноження клітин не забезпечується концентраціями, досягнутими в практичних умовах («робочими» концентраціями, тобто такими, які застосовують в умовах експлуатації), а також ситуацій б) та в), наведених вище. Такі визначення запропоновано Європейським агентством з безпечності харчових продуктів (European Food Safety Authority, EFSA). «Чутливість або резистентність до протимікробних речовин зазвичай визначають з урахуванням параметрів, установлених *in vitro*. Цими термінами позначають здатність бактерій до виживання під впливом певної концентрації речовини протимікробної дії, але застосовують різні визначення залежно від контексту дослідження — клінічне діагностування або епідеміологічне дослідження» [13, 14].

Терміном «медикаментозно стійкі до багатьох препаратів» (Multi-Drug Resistant (MDR)) позначають бактерії, які виявляють стійкість до антибіотиків, які належать до різних хіміотерапевтичних класів, за рахунок різних механізмів резистентності [15]. Комітет EFSA використовує термін «стійкість до багатьох речовин» (multiple resistance (MR)), або мультирезистентність, для опису штамів бактерій, резистентних до декількох протимікробних речовин або протимікробних речовин різних класів [14, 15].

Термін «перехресна резистентність» використовують для визначення штамів, в яких виникла резистентність, що забезпечує їх виживання під впливом різних молекул протимікробної дії, механізм або механізми якої пов'язані або накладаються.

У літературі трапляються й інші терміни: «нечутливість», «стійкість» та «ко-резистентність». Нечутливість — це природна властивість до

опору мікроорганізмів. Наприклад, непроникність клітинного шару мікобактерій та грамнегативних бактерій. Стійкість — це зниження чутливості до впливу протимікробних бактерій, про що свідчить підвищення значення мінімальної інгібувальної концентрації (MIK) або втрата запобіжною системою здатності перешкоджати розмноженню мікроорганізмів. Ко-резистентність — це поява генетичних детермінант (інтегронів, транспозонів або плазмід), які переносять гени, котрі кодують непов'язані механізми резистентності, здатні до одночасної передачі та спільної дії при потрапленні в нову бактеріальну клітину.

АКТИВНІ РЕЧОВИНИ БІОЦИДІВ

Кількість біоцидів, які застосовують, величезна. У метааналізі не розглядали біоциди, використання яких зумовлено їх поверхнево-активними властивостями або не пов'язане з протимікробною активністю, а також протимікробні пептиди (наприклад, бактеріоцини). Проаналізовано інформацію щодо біоцидів, котрі застосовують найчастіше, резистентність бактерій до яких є відомою.

Протимікробна активність біоциду залежить від його компонентів (речовини, які змінюють рН, поверхнево-активні речовини (ПАР), антиоксиданти, хелатоутворювальні речовини, ароматичні сполуки, спирти, сполуки рослинного походження, протимікробні амфіфільні пептиди (катіонні протимікробні пептиди (CAMP)), ферментні протимікробні системи). Засіб може містити декілька різних біоцидів для підсилення загальної протимікробної дії. Результат комбінації двох або більше біоцидів можна визначити як: а) адитивний, якщо комбінована активність не перевищує сумарну дію кожного з компонентів при їх ізольованому використанні, б) синергічний, якщо комбінована активність перевищує сумарну дію кожного з компонентів при їх ізольованому використанні, в) антагоністичний, якщо комбінована активність є меншою, ніж сумарна дія кожного з компонентів при їх ізольованому використанні. Метою створення складних біоцидних засобів, які містять більш ніж два види активних молекул, є забезпечення синергізму дії. Деякі з компонентів, які часто використовують у складі засобів побутового призначення, є ПАР та речовинами, котрі забезпечують «проникність мембран». ПАР притаманна антибактеріальна активність (аніонні, неіонні, органічні кислоти (активні щодо грамнегативних бактерій), сполуки з алкільними ланцюгами (активні як щодо грамнегативних, так і

щодо грамнегативних бактерій) [16]. Їх комбінація може підсилювати загальну бактерицидну активність продукту. Зазвичай при маркуванні продукту їх не зазначають як діючу речовину. Речовини, котрі забезпечують «проникність мембран» та хаотропні речовини (етилендіамінтетраоцтова кислота (ЕДТК), детергенти), при застосуванні в комбінації з біоцидами також підсилюють бактерицидну активність продукту, спрямовану переважно на знищення грамнегативних бактерій. Механізм дії цих речовин детально описано [17—19].

На відміну від нагляду за використанням антибіотиків, які застосовують у медицині та ветеринарії, використання біоцидів не є постійно контрольованим, кількість застосованого продукту є невідомою. Відомі лише загальні цифри, наприклад, у 2006 р. вартість ринку біоцидів у ЄС становила 10—11 млрд євро. Цей показник продовжує зростати [4].

Відомо, що біоциди використовують у великій кількості, але Комітету ЄС, попри численні зусилля, не вдалося отримати інформацію для визначення справжнього обсягу їх використання. Вважають, що об'єм виробництва багатьох із сполук на декілька порядків перевищує такий антибіотиків. Припускають, що величезна кількість біоцидів, які потрапили в навколишнє середовище, сама по собі може становити загрозу через спричинений нею селективний тиск на популяції бактерій.

Директивою 98/8/ЄС Європейського парламенту та Ради Європи від 16 лютого 1998 р. з питань розміщення біоцидних продуктів на ринку визначено правила застосування активних речовин у складі цих продуктів, вимоги до продуктів біоцидної дії, які надходять на ринок, зокрема до процесу реєстрації продуктів. Передбачено надання інформації щодо ефективності, безпечності, результатів екотоксикологічних досліджень, аналітичних процедур, застосованих для визначення складу речовини, її токсичності, контролю за залишками, зокрема за продуктами метаболічного перетворення та розкладу.

Обґрунтоване використання біоцидів є наріжним каменем будь-якої ефективної програми запобігання та контролю за внутрішньолікарняними інфекціями (ВЛІ) [19]. Згідно з класифікацією CEN/TC * 216 (Засоби дезінфікуючі хімічні та антисептики) термін «дезінфекція» означає обробку для запобігання інфікуванню,

термін «антисептик» — речовину, призначену для усунення інфекції. Засоби дезінфекції використовують для знезараження медичного обладнання та інструментів, поверхонь у приміщеннях та неушкодженої шкіри. Антисептики застосовують для обробки ушкодженої шкіри та слизових оболонок.

Біоциди, призначені для контролю за розмноженням патогенних мікроорганізмів або видалення їх з предметів, поверхонь або неушкодженої шкіри, класифікують з урахуванням забезпечуваного ними рівня інактивації мікроорганізмів. Засоби дезінфекції з низькою активністю інактивують більшість вегетативних бактерій, деякі гриби та віруси (оболонкові віруси), засоби із середньою активністю — вегетативні бактерії, мікобактерії, більшість вірусів та грибів, але не обов'язково знищують спори бактерій, засоби з високою активністю — всі мікроорганізми (вегетативні бактерії, мікобактерії, гриби, оболонкові та безоболонкові віруси), за винятком великої кількості спор бактерій. Високоактивні дезінфікуючі засоби, здатні інактивувати спори бактерій при тривалому впливі, називають хімічними стерилізувальними речовинами (стерилантами).

У табл. 1 наведено перелік засобів дезінфекції, схвалених до застосування в закладах охорони здоров'я США Управлінням з контролю харчових продуктів та лікарських засобів (US-FDA) або зареєстрованих Агенцією із захисту довкілля США (US-EPA) [20—22].

У 1968 р. Spaulding розробив раціональний метод дезінфекції і стерилізації медичного обладнання та інструментів, які було розподілено на три категорії за ступенем ризику інфікування, зумовленого їх застосуванням: критичні, напівкритичні інструменти та некритичні інструменти.

До критичних інструментів віднесено такі, котрі контактують зі стерильними тканинами, зокрема стерильними порожнинами та судинною системою (наприклад, хірургічні інструменти, голки, шприци, прилади, призначені для імплантації, внутрішньосудинні прилади, серцеві та уретральні катетери, астроскопи, лапароскопи) і мають бути стерильними при застосуванні, оскільки забрудненість інструменту призведе до передачі патогенних організмів. Найбільш ефективним та надійним методом обробки є парова стерилізація під тиском, чутливі до впливу високих температур прилади

* Технічні комітети Європейського Комітету зі стандартизації.

Таблиця 1

Біоциди, схвалені US-FDA до застосування в закладах охорони здоров'я або зареєстровані US-EPA [20—22]

Рівень дезінфекції	Біоцид
Низький	Етиловий або ізопропіловий спирт (70—90 %)
	Розчини йодофору (згідно з рекомендаціями з приготування розчину)
	Фенольні (згідно з рекомендаціями з приготування розчину)
	Засоби для миття, які містять четвертинні сполуки амонію (згідно з рекомендаціями з приготування розчину)
	Гідрохлорит натрію (5,25—6,15 %, побутова білизна, розчинена до концентрації 1 : 500, вміст хлору ≈100 %)
Середній	Етиловий або ізопропіловий спирт (70—90 %)
	Фенольні (згідно з рекомендаціями з приготування розчину)
	Гідрохлорит натрію (5,25—6,15 %, побутова білизна, розчинена до концентрації 1 : 500, вміст хлору ≈100 %)
Високий	Глутаральдегід ≥ 2 %
	Глутаральдегід (1,12 %) та фенол/фенат (1,93 %)
	Перекис водню (7,5 %)
	Перекис водню (7,35 %) та надоцтова кислота (0,23 %)
	Перекис водню (1 %) та надоцтова кислота (0,08 %)
	Гіпохлорит (хлор, для одноразового використання, який утворюється при електролізі сольового розчину, котрий містить > 650—675 % активного вільного хлору)
	Орто-фталальдегід (0,55 %)
	Надоцтова кислота (0,2 %)

слід обробляти етиленоксидом (ЕТО), плазмою перекису водню або хімічними стерилантами. Через обмеженість можливості застосування рідких хімічних стерилантів не в автоматичних стерилізаторах, їх використання слід обмежити критичними інструментами, чутливими до впливу високих температур, які не можна стерилізувати іншими методами.

Напівкритичні інструменти — це прилади, які контактують зі слизовими оболонками або ушкодженою шкірою (обладнання для респіраторної терапії та анестезії, гнучкі ендоскопи, дзеркала для обстеження глотки, зонди для манометричного обстеження стравоходу, вагінальні та ректальні зонди, відхідниково-прямокишкові манометричні катетери, розширювачі для носа). Найкращим методом їх обробки є стерилізація, оскільки це значно підвищує безпечність. Також безпечність інструментів для пацієнта може забезпечити високоефективна дезінфікувальна обробка.

Некритичні інструменти — це інструменти, котрі контактують з неушкодженою шкірою, або предмети, з якими пацієнт не контактує (стетоскопи, підкладні судна, манжети апаратів для вимірювання тиску, кабелі та електроди електрокардіографів). Ризик інфікування па-

цієнтів через некритичні прилади є дуже низьким, тому для їх обробки можна застосовувати засоби дезінфекції з низькою активністю. До цієї категорії також належать поверхні.

Біоциди часто застосовують для дезінфекції поверхонь у приміщенні закладу та у безпосередньому оточенні пацієнта (підлога, стіна, стіл, перила ліжок, ширма тощо). Думки щодо регулярного застосування біоцидів для дезінфікування поверхонь є суперечливими [23—27].

Роль поверхонь об'єктів лікарняного середовища в поширенні ВЛІ остаточно не визначено. Хоча пацієнти з ними не контактують, є дані, що вони можуть призводити до епідемічного або ендемічного поширення важливих з точки зору епідеміологічного контролю бактерій, таких як метицилін-резистентний *Staphylococcus aureus* (MRSA), ванкомицин-резистентний ентерокок (VRE) та *Clostridium difficile*, через забруднення рук медичного персоналу [28, 29]. У деяких ситуаціях рекомендована цілеспрямована дезінфекція певних поверхонь для запобігання поширенню патогенних бактерій; наприклад, поверхонь, забруднених кров'ю, калом, сечею, іншими потенційно контамінованими речовинами, або поверхонь, до яких часто торкаються у від-

діленнях високого ризику (наприклад, у відділеннях інтенсивної терапії).

З урахуванням комплексної природи ВЛІ, на яку впливає багато чинників, необхідно провести добре сплановані дослідження ролі дезінфекції поверхонь у запобіганні ВЛІ, а також визначити бактеріологічні стандарти для оцінки гігієни поверхонь у закладах охорони здоров'я [25, 30, 31].

Деякі виробники створюють продукти, поверхня яких містить біоциди (пластики, поруччя в душових кабінах, завіси та пересувні столики). Такі продукти вже є в закладах охорони здоров'я. До складу матеріалу їх поверхонь входять іони металів, наприклад, срібла. Проведено низку досліджень для визначення доцільності повернення до застосування металевих поверхонь, наприклад, використання міді для дверних ручок або предметів, які часто застосовують [32—35]. Хоча результати деяких досліджень свідчать про протимікробну активність мідних поверхонь, їх фактичний вплив порівняно з іншими поверхнями (переважно з нержавіючої сталі) важко оцінити [36].

Дедалі частіше в закладах охорони здоров'я застосовують протимікробні серветки. Для виготовлення доступних на ринку серветок використовують активні речовини, протимікробна ефективність яких значною мірою залежить від вмісту детергентів, натуральних продуктів та біоцидів. Хоча ці салфетки є доцільним складником режиму дезінфікуючої обробки, нещодавно проведене дослідження висвітило проблеми, пов'язані з їх застосуванням, зокрема, спричинені неналежним використанням (багаторазове застосування для обробки декількох поверхонь) [37].

Деякі біоциди (засоби дезінфекції та антисептики) використовують для зменшення загальної кількості мікроорганізмів або знищення патогенних бактерій на шкірі пацієнтів та медичного персоналу. Антисептики відрізняються від дезінфікувальних засобів тим, що застосовуються для обробки неушкодженої шкіри та слизових оболонок. Біоциди як дезінфікувальні засоби широко використовують в медицині, ветеринарії, харчовій промисловості.

Дезінфекція вважається основним етапом забезпечення певного гігієнічного статусу, необхідного в зонах виготовлення та обробки харчових продуктів, а також на консервних заводах. Для дезінфекції обладнання, контейнерів, поверхонь та трубопроводів, пов'язаних з виготовленням, транспортуванням і зберіган-

ням харчових продуктів та напоїв (питної води) застосовують велику кількість біоцидів.

На засоби дезінфекції, призначені для використання в харчовій промисловості, не поширюється дія Директиви 98/8/ЄС про розміщення на ринку продуктів біоцидної дії. Використання дезінфікувальних засобів для поліпшення якості питної води, призначеної до споживання людиною, регулюється Директивою про питну воду 98/83/ЄС18. Біоциди застосовують у водогонях для збереження певної мікробіологічної якості води до та під час її розподілу за рахунок підтримки загальної кількості мікроорганізмів на прийнятному рівні та знешкодження патогенних мікроорганізмів.

У ХХ ст. застосовували хлор для попереднього хлорування сирової води на етапі її потрапляння в водопровідну систему, дезінфекції та після дезінфекції. Однак через утворення галогенованих побічних продуктів попереднє хлорування нині не рекомендують. Для дезінфекції частіше застосовують окиснювачі, такі як озон або хлор-двооксид. У деяких країнах обробку після дезінфекції завжди проводять із застосуванням хлору або хлорамінів.

БІОЦИДИ В ДОВКІЛЛІ

Біоциди застосовують з різною метою, зокрема для обробки води, стічних вод або в промисловості. Ці види застосування контролюються Директивою про біоциди 98/8/ЄС, але через відсутність вимог про звітність, кількість використаних продуктів невідома.

Багато заводів з обробки стічних вод, особливо в прибережних зонах, застосовують для фінальної обробки дезінфекцію води хлором. Однак ця практика викликає багато нарікань через токсичність побічних продуктів для водної фауни, а також через знищення непатогенних індикаторів фекальної контамінації, тоді як віруси та найпростіші, більш резистентні до впливу хлору, виживають і можуть спричинити спалахи захворювань плавців та споживачів морепродуктів.

Баштові охолоджувачі води — нове місце інтенсивного застосування дезінфікувальних засобів, відтоді коли стала відома їх роль у поширенні контамінованих аерозолів (носіїв бактерій з роду *Legionella*, збудників легіонелозу). Нині використовують багато засобів дезінфекції для уникнення контамінації рідини для охолодження. Ці засоби потім входять до складу аерозолів або знищуються при потрапленні в стічні води. Збільшується застосування біоцидів у будівельних матеріалах як речовин,

котрі запобігають гниттю, в матеріалах для протимікробної обробки поверхонь, їх додають у пальне та пластики, але застосовані кількості невідомі. Розширення сфери використання біоцидів призводить до утворення наночастинок дезінфікувальних засобів (наприклад, при їх використанні в складі матеріалів для захисту бетонних фасадів від лишайів та плісняви), які у великій кількості потрапляють у довкілля.

Велику увагу приділяють забезпеченню протимікробних властивостей поверхонь за рахунок використання протимікробного покриття або просочення поверхонь. Хоча кількість компаній, які розробляють такі матеріали для різних промислових потреб, збільшується, найчастішим завданням є захист зовнішніх поверхонь від впливу навколишнього середовища, особливо від ушкоджень через появу грибка. Залучення біоцидів у ці будівельні матеріали має на меті забезпечення надійного захисту поверхонь (наприклад, замазки, шпалери, фарби). Деякі з таких оздоблювальних матеріалів здатні виділяти біоциди в низькій концентрації, через що можливе зростання локального селективного тиску. Оздоблювальні матеріали, які виділяють біоциди, а також дія локалізованого селективного впливу на мікрофлору довкілля та резидентну мікрофлору біоцидів у вигляді аерозолів, які виділяють матеріали для просочення поверхонь, не досліджено, тому важко оцінити фактичний вклад таких матеріалів у збільшення резистентності мікроорганізмів до біоцидів або антибіотиків.

БАКТЕРІАЛЬНА РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО БІОЦИДІВ

Повідомлення про резистентність бактерій до біоцидів почали з'являтися з 1950-х років. Часто вони пов'язані із забрудненням біоцидами, які містять катіонні речовини [38, 39]. Резистентність бактерій виникає переважно внаслідок неправильного використання або зберігання препаратів, через що знижується їх концентрація, а отже, і ефективність. Є повідомлення про випадки резистентності бактерій до всіх відомих консервантів [10, 11].

У закладах охорони здоров'я зафіксовано випадки резистентності бактерій до біоцидів при застосуванні таких речовин, як хлоргексидин, четвертинні сполуки амонію [40], бісфенол, триклозан [41, 42], йодофор [43] і навіть глутаральдегід [43—45] та пероксиди [46].

Результати недавнього дослідження свідчать, що, хоча біоциди виявляють активність щодо популяцій планктонних бактерій,

таких як MRSA або *Pseudomonas aeruginosa*, деякі з біоцидів, які застосовують у лікарнях, є неефективними щодо нозокоміальних патогенних мікроорганізмів, які містяться в біоплівках на поверхнях, а отже, не придатні для знищення цих резервуарів внутрішньолікарняних інфекцій [47].

Резистентність *Salmonella* в біоплівках до триклозану пояснюється низьким рівнем проникнення речовини крізь міжклітинний матрикс. Зміна експресії генів може призводити до зростання резистентності як до триклозану, так і до інших протимікробних речовин [48]. Більшість даних щодо резистентності бактерій до біоцидів ґрунтуються на результатах лабораторних досліджень, метою яких було вивчення різних речовин, наприклад катіонних біоцидів [49, 50], фенолів [51, 52], перекису водню, надтової кислоти [46] та інших сполук [53].

Концентрацію біоциду вважають найважливішим чинником ефективної дії [54]. У разі біоплівок на концентрацію біоциду та чутливість бактерій значною мірою впливає знижена здатність активних молекул проникати всередину біоплівки [55—58]. Концентрацію речовини слід урахувати при визначенні резистентності бактерій у практичних умовах.

Висновки багатьох авторів, котрі досліджували резистентність бактерій до біоцидів, ґрунтуються на визначенні МІК. Використання МІК як показника резистентності бактерій до біоцидів є спірним, оскільки в практичних умовах біоциди застосовують у концентраціях, набагато вищих за мінімальну, тому неефективність щодо зменшення кількості бактерій через підвищення МІК є малоімовірним [54]. Дані деяких досліджень підтверджують, що штами бактерій при підвищенні МІК деяких біоцидів залишаються чутливими до тих самих біоцидів при їх застосуванні у вищій («робочій») концентрації [59, 60].

Таким чином, визначення *мінімальної бактерицидної концентрації* (МБК) є доцільнішою методикою, яка забезпечує можливість порівняння показників знищення стандартних та резистентних штамів. Під стандартними штамми розуміють популяції бактерій, чутливих до біоцидів. Визначення показників знищення бактерій при застосуванні біоцидів у «робочій» концентрації дає змогу розрізнити ситуації, коли штами бактерій є нечутливими (наприклад, через природну резистентність), або набули резистентності (шляхом порівняння зі стандартними штамми). Визначення кінетики процесу інактивації при впливі біоциду і особливо форма кривої інактивації дають інформацію щодо

походження резистентності популяції клітин та/або взаємодії між біоцидом та популяцією клітин.

Визначення показників знищення клітин під впливом біоциду слід проводити із застосуванням речовини-нейтралізатора або з усуненням біоциду, інакше можлива завищена оцінка летального впливу біоциду на досліджені клітини.

У багатьох дослідженнях застосовують МІК як індикатор зміни чутливості бактерій до впливу біоциду. Підвищення резистентності бактерій до впливу біоциду в низькій концентрації може спричинити його застосування в низькій концентрації. Підвищення рівня резистентності відбувається через селективний механізм, наприклад при багаторазовому впливі біоциду в низькій концентрації або при впливі біоциду в зростаючій концентрації [49, 50, 53, 57, 61, 62]. Показники кінетики розмноження бактерій за наявності біоциду в низькій концентрації також можна застосовувати як індикатор зміни бактеріального фенотипу [57, 60, 63].

Дія біоцидів зумовлена впливом на різні мішені бактеріальних клітин. Отже, виникнення резистентності бактерій є результатом: а) специфічної модифікації мішені, б) зміни метаболічного процесу. Резистентність виникає внаслідок процесів, які призводять до зниження концентрації біоциду всередині клітини до рівня, нижчого за шкідливий. Деякі механізми, які діють за цим принципом (зміна способу дії), детально описано. До них належать зміна клітинної оболонки, проникності, ефлюкс та розщеплення. Ймовірно, ці механізми діють синергічно, однак досліджень, присвячених визначенню механізмів резистентності бактерій при впливі біоцидів, мало.

Ефективність біоцидів залежить від низки внутрішніх та зовнішніх чинників. До внутрішніх належать характеристики біоцидної речовини та спосіб її застосування. Найважливіше значення мають концентрація і тривалість експозиції. Комбінація тривалості експозиції та концентрації визначає результат — зменшення кількості життєздатних бактерій. Цей принцип називають КЧ (концентрація–час) концепцією. При значеннях часу та концентрації, які залишаються в певних межах, між ними існує взаємозв'язок, який визначається постійним коефіцієнтом та застосовується для характеристики ефективності. Це означає, що можливе забезпечення однакового результату при застосуванні дезінфікуючого засобу у вищій концентрації протягом нетривалої експозиції та при його застосуванні в низькій концентрації

протягом тривалішої експозиції. На ефективність біоциду в довкіллі впливає також стабільність активних речовин у його складі.

Зовнішні чинники зумовлені умовами довкілля при застосуванні. Важливе значення має температура середовища, оскільки дієвість більшості речовин при низькій температурі зменшується. Наявність білків також знижує ефективність, оскільки вони взаємодіють з речовиною. На ефективність впливає спосіб і тривалість застосування (механічні чинники). Ще один важливий чинник — кислотність. Концентрація мікроорганізмів, вік бактеріального угруповання та захист за рахунок прикріплення до твердих поверхонь, утворення біоплівки також мають важливе значення [13, 64].

МЕХАНІЗМИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ БАКТЕРІЙ ДО БІОЦИДІВ

Описано декілька механізмів, які забезпечують резистентність бактерій. Деякі з них притаманні окремим клітинам бактерій, інші — популяціям. Виділяють природні (внутрішньо притаманні мікроорганізмам) механізми резистентності та набуті (внаслідок мутацій або через включення до клітини мобільних генетичних елементів) [65]. Природні механізми зумовлюють резистентність бактерій до біоцидів з високим рівнем активності. В такому випадку йдеться про несприйнятливості бактерій.

Найкраще вивченим механізмом природної резистентності є зміна проникності оболонки клітини, яку ще називають «бар'єром проникності». Цей механізм спостерігали не лише у спор [12, 66], а й у вегетативних бактерій, наприклад, у мікобактерій та до деякої межі у грамнегативних бактерій. Бар'єр проникності обмежує кількість біоциду, який проникає всередину клітини, через що його концентрація знижується [18, 67, 68]. У мікобактерій шар мікоіларабіногалактану забезпечує непроникність усередину клітини багатьох протимікробних засобів [66, 68]. Крім того, наявність та склад арабіногалактану/арабіоманану в стінках клітин також заважає проникненню біоциду всередину мікобактерій [45, 69].

Роль ліпополісахаридів (ЛПС) у забезпеченні бар'єра проникності грамнегативних бактерій добре висвітлено [18, 70—72]. Є повідомлення про зниження ефективності біоцидів унаслідок зміни інших компонентів ультраструктури зовнішньої мембрани [73—75], наприклад білків, а також через зміну складу жирних кислот [76—78] та фосфоліпідів [79]. Такі випадки зміни ультраструктури, які спричинили зниження

чутливості клітин до біоциду, спостерігали після впливу біоциду зазвичай у низькій концентрації (нижчій за МІК).

Заряд на поверхні клітини також впливає на механізм резистентності бактерій до біоцидів з позитивним зарядом іонів (четвертинні сполуки амонію) [80]. Ймовірно, резистентність бактерій до біоцидів зумовлена комбінацією різних механізмів [73—75], хоча зазвичай предметом вивчення є особливості окремих механізмів.

Наявність ефлюксного насоса — ще один механізм, описаний у літературі. Протягом останнього десятиріччя визнано його роль як одного з механізмів резистентності. Ефлюксні насоси знижують внутрішньоклітинну концентрацію токсичних сполук, зокрема біоцидів [64, 81—87]. Цей механізм є дуже поширеним у бактерій. Описано п'ять функціональних родин транспортних протеїнів: родина незначної множинної резистентності (small multidrug resistance (SMR)), нині це частина суперродини транспортера лікарських засобів/метаболітів (drug/metabolite transporter (DMT)), родина АТФ-зв'язувального касетного транспортера (ATP-binding cassette (ABC)), родина транспортних протеїнів (resistance/nodulation/division (RND)) та родина білків, які здійснюють екструзію множинних лікарських засобів і токсичних сполук (multidrug and toxic compound extrusion (MATE)) [81, 83, 85, 88, 89].

Значення ефлюксних насосів як чинника резистентності бактерій до біоцидів невелике, оскільки зниження чутливості бактерій до деяких біоцидів унаслідок експресії білків, які діють як ефлюксні насоси зазвичай виявляється як підвищення значення МІК, а не як резистентність при впливі високої концентрації активної речовини. Доведено, що ефлюксні насоси знижують ефективність багатьох біоцидів, зокрема четвертинних сполук амонію, фенольних парабенів та речовин інтеркаляторної дії [90—92], наприклад, щодо клітин *Staphylococcus aureus*, що спричинено дією таких типів функціональних насосів, як QacA-D [93], Smr, QacG [91] та QacH [94], щодо грамнегативних бактерій (*Pseudomonas aeruginosa*) унаслідок дії насосів MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN та MexJK [89, 95—97] та (*Escherichia coli*) за рахунок насосів AcrAB-TolC, AcrEF-TolC та EmrE [89, 98—100].

Як механізм резистентності бактерій описано також процес ферментного перетворення біоцидів, особливо це стосується солей важких металів (срібло та мідь) унаслідок ферментного відновлення катіонів цих металів [12], а також

парабенів [102], альдегідів (формальдегід дегідрогеназа) [103], пероксигенів (каталаза, супероксиддисмутаза та алкілгідропероксидаза, які усувають вільні радикали) [104]. Біологічне перетворення різних сполук у довкіллі добре вивчено, зокрема з використанням мікроорганізмів родини *Pseudomonads*, а також змішаних угруповань мікроорганізмів. Однак значення перетворення як механізму резистентності бактерій до «робочих» концентрацій біоцидів залишається нез'ясованим. Щодо ефлюксу то підвищена резистентність, спричинена перетворенням біоцидів, була підтверджена лише збільшенням величини МІК, а не зниженням знищувальної активності речовин.

Модифікація мішеней спостерігається в окремих випадках та, ймовірно, є не дуже поширеним механізмом резистентності бактерій, хоча для остаточного висновку бракує даних. Доведено, що бісфенол і триклозан у низьких концентраціях здатні до специфічних реакцій білками, носіями еноіл-ацилредуктази [105—108]. Модифікацією цього ферменту пояснюють резистентність бактерій до низьких концентрацій зазначеного біоциду [52, 109, 110]. Відзначено, що у високій концентрації триклозан взаємодіє з іншими мішенями всередині клітини, зміна яких підтверджує летальний вплив бісфенолу [111].

Питанням розвитку бактеріальної резистентності, спричиненої набутими механізмами, такими як мутація та детермінанти резистентності, приділяється велика увага, оскільки завдяки цим механізмам бактерії, раніше чутливі, стають нечутливими до дії речовини або груп речовин [112]. Процеси набуття генів, які кодують резистентність, описані в літературі [38, 113] Вони мають важливе значення, оскільки можуть спричинити виникнення перехресної або ко-резистентності [38, 89, 114, 115].

Даних щодо впливу біоцидів на передачу генетичних детермінант резистентності дуже мало. У висновку, зробленому за результатами одного дослідження, зазначено, що деякі біоциди в субінгібувальній (залишковій) концентрації пригнічують передачу генів, тоді як інші підвищують ефективність передачі генів [116].

Проведено декілька досліджень паралельної передачі маркерів резистентності епідемічного MRAS після терапії із застосуванням антибіотиків, проведеної з метою деколонізації. Автори повідомили про те, що підвищення МІК хлоргексидину через 6 років після ізоляції епідемічного штаму не спостерігали, хоча ізольовані клітини були носіями гена *qac* [117]. Однак при засто-

Таблиця 2
Механізми резистентності бактерій до біоцидів

Механізм	Тип	Рівень чутливості до інших біоцидів ¹	Перехресна резистентність
Проникність мембран	Природна (набута)	Без змін	Так
Ефлюкс	Природна/набута	Зниження	Так
Перетворення	Природна/набута	Зниження	Ні
Мутація (мішені)	Набута	Зниження	Так ²
Зміна фенотипу	Після експозиції	Зниження	Так
Активация (відповіді на стрес)	Після експозиції	Перемінний	Так

Примітка. ¹ Рівень чутливості визначали за концентрацією біоцидів. ² Перехресна резистентність не спостерігається при випробуванні інших біоцидів, але наявна до антибіотиків.

суванні триклозану таких результатів не отримано, клінічні ізоляти *S. aureus* характеризувалися резистентністю до мупіроцину у високих концентраціях і триклозану — в низьких (МІК 2—4 мг/л). На думку авторів, резистентність до обох хімічно різних сполук спричинена передачею генів [117]. У табл. 2 наведено огляд головних механізмів резистентності бактерій до біоцидів.

ЕКСПРЕСІЯ ГЕНІВ, ЯКІ КОДУЮТЬ РЕЗИСТЕНТНІСТЬ

Активация механізмів резистентності бактерій після впливу біоцидів у низькій концентрації спостерігалася у багатьох дослідженнях. До цих механізмів належать надлишкова експресія білків, ефлюксних насосів [118, 119], множинних генетичних систем, таких як *soxRS* та *oxyR*, а також продукування 5'-дифосфату 3'-дифосфату (ppGpp) [46]. Ці механізми є частиною системи відповіді клітин бактерій на стрес, що доведено у дослідженнях. Описано випадки зменшення швидкості розмноження та експресії генів клітинами *Escherichia coli* в умовах стресу [120]. Під впливом ізотіазолонів відбувається реорганізація метаболічних процесів клітин синьогнійної палички [61]. М. Moken та співавт. [99] описали активацію MDR-фенотипу та його роль у виникненні перехресної резистентності до скипидару, триклозану та багатьох антибіотиків. Пізніше М. Webber та співавт. [121] довели, що резистентність до триклозану *Salmonella typhimurium* є чітко зумовленою (надлишкова експресія та мутагенез *fab1*; активний експорт за участю білків-носіїв AcrAB-TolC), а також, що клітини-мутанти, які утворюються після одноразової обробки триклозаном, здатні конкурувати з клітинами диких штамів.

Цікаво, що при обробці триклозаном біоплівки також спостерігали активацію транскрипції

гена *acrAB*, який кодує білки, ефлюксні насоси грамнегативних бактерій, гена *marA*, головного регулятора генетичного каскаду, котрий кодує резистентність до множинних лікарських засобів, а також генів *bcsA* і *bcsE*, які кодують синтез целюлози. Таким чином, коли клітини *Salmonella* містяться в біоплівці, проникність їх мембран істотно змінюється через зниження синтезу поринів, зростання експорту та підвищення продукції екзополісахаридів [48]. Цим може пояснюватися значне зниження чутливості до молекул протимікробних речовин, зокрема біоцидів та антибіотиків.

Іноді специфічний механізм встановити не вдається. У деяких дослідженнях повідомляється про зміну фенотипу, яка призводила до виникнення резистентності до декількох сполук *in vitro* після обробки клітин біоцидом у низькій концентрації [38, 53, 60]. Обробка *E. coli* полігексаметилен-бігуанідом (PHMB) спричиняла зміну активності транскрипції різних генів, зокрема, гена *rhs*, який є посередником між відновленням (репарації) і зв'язуванням нуклеїнових кислот [122]. Вплив біоциду-окиснювача призводив до зміни експресії білків резистентних клітин-мутантів *Salmonella enterica* у відповідь на стрес та до зміни експресії ферментів детоксикантів. Вплив дезінфікуювального засобу на основі фенолу також спричиняв зміну експресії білків, яка відповідала зміні експресії системи білків-ефлюксних насосів [92].

Quorum sensing (дистанційні мікроб-мікробні взаємодії) також можуть відігравати певну роль у появі фенотипу резистентності [123–125], хоча і обумовлено типом застосованого біоциду. Н. MacLehose та співавт. [126] довели, що чутливість клітин *P. aeruginosa* в біоплівках до четвертинних сполук амонію та хлоргексидину не залежить від *quorum sensing*, опосередкованого гомозерин лактоном (HSL), але залежить при за-

стосуванні бропонолу. Для остаточного визначення ролі *quorum sensing* у виникненні механізму резистентності потрібна додаткова інформація [126].

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО БІОЦИДІВ У ЗАКЛАДАХ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

Резистентність грамнегативних бактерій до препаратів срібла, які застосовували в компресах для лікування опікових ран, було відзначено ще в 1966 р. [127]. У 1968 р. через ускладнення, які виникали при використанні в компресах нітратів срібла, почали застосовувати сульфадіазин срібла (суміш солей срібла із сульфонамідом) [127].

У 1970-х роках зафіксували декілька спалахів інфекційних ускладнень опікових ран або колонізації штамами грамнегативних бактерій, резистентних до сульфадіазину срібла (*Enterobacter cloacae*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*) [127] та до нітратів срібла (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium*). Однак тоді ще не було встановлено зв'язок між зростанням резистентності до препаратів срібла та підвищеною резистентністю до антибіотиків, які застосовували для лікування ран [128].

Активация резистентності бактерій спостерігається при впливі майже всіх біоцидів, зокрема їх менш реактивних типів, таких як четвертинні сполуки амонію, бісбігуаніди та фенольні сполуки, а також більш реактивних речовин, наприклад глутаральдегіду. Однак на відміну від резистентності до антибіотиків, проблему резистентності до біоцидів не вважали важливою [117]. Незважаючи на збільшення використання дезінфікувальних засобів та антисептиків у закладах охорони здоров'я, набули резистентність до цих засобів у бактерій, ізольованих з клінічних зразків або змивів з поверхонь, спостерігали рідко. Резистентність бактерій до біоцидів вивчали *in vitro*. Доказів її виникнення в практичних умовах мало [22, 57, 112, 117].

Ізольовані штами, яким притаманна знижена чутливість, зберігають чутливість до робочих концентрацій біоцидів, які застосовують у практичних умовах [59]. Концентрація дезінфікувальних засобів та антисептиків, котрі використовують у практичних умовах, є значно вищою, ніж МІК для штамів зі зниженою чутливістю [22]. Цей висновок суперечить характеристикам резистентності до антибіотиків, яка підвищується з часом, унаслідок чого антибіотики втрачають клінічну ефективність.

Після того як було доведено, що застосування мупіроцину спричиняє деколонізацію пацієн-

тів-носіїв MRSA, було проведено дослідження, які виявили не лише появу штамів MRSA, резистентних до мупіроцину, а і наявність у клітинах цих штамів гена, який кодує резистентність до четвертинних сполук амонію (*qacA*), розташованого в плазміді резистентності до гентаміцину, який кодує механізм експорту, внаслідок чого виникає резистентність до низьких концентрацій хлоргексидину. Також описано випадки резистентності госпітальних штамів MRSA до триклозану, яка передається з генами та виникає паралельно з резистентністю до мупіроцину у високих концентраціях.

Ці дані свідчать про необхідність проведення досліджень тривалого впливу біоцидів в умовах лікарень, а також зв'язків з резистентністю до інших протимікробних препаратів. D. Stickler та G. Jones [129] описали можливість виникнення резистентних до триклозану штамів *Proteus mirabilis*. Вони рекомендували проведення моніторингу мікрофлори сечі пацієнтів, яким встановлено катетери, для своєчасного виявлення штамів *Proteus mirabilis* зі зниженою чутливістю до триклозану при проведенні будь-яких клінічних досліджень або при застосуванні триклозану після завершення дослідження для запобігання утворенню кірки або блокування уретральних катетерів.

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО БІОЦИДІВ У ДОВКІЛЛІ

Дослідження свідчать про те, що біоциди, наявні в низьких концентраціях у довкіллі після їх застосування та утилізації, можуть спричинити підвищення селективного тиску, внаслідок чого зростає резистентність до дезінфікувальних засобів та антибіотиків. Наприклад, результати дослідження L. Randall та співавт. [130], які вивчали вплив триклозану та фенольних дезінфікувальних засобів сільськогосподарського призначення, свідчать про те, що клітини *Salmonella enterica* здатні витримувати відносно високі концентрації дезінфікувальних засобів, у них також з'являється перехресна резистентність до деяких антибіотиків.

Результати дослідження А. McVain та співавт. [131], які вивчали динамку мікроорганізмів та зміни чутливості до протимікробних речовин при впливі триклозану на зразки, отримані зі зливних труб, доводять, що під впливом триклозану загальна кількість бактерій у біоплівках, які утворюються в зливних трубах, вірогідно не зменшується, але склад бактерій динамічно змінюється. Ця зміна популяції спричинена природною резистентністю або нечутливістю

деяких видів, здатних до перетворення внаслідок впливу триклозану. Важливим є висновок авторів, що профіль чутливості до антибіотиків не змінився.

J. Lear та співавт. [132] виділили багато штамів бактерій з природною резистентністю із зразків, отриманих на заводі, де виробляли триклозан і хлорксиленол. Невелика кількість ізолятів *Acinetobacter* та *Citrobacter* характеризувалися підвищеною нечутливістю до триклозану, але їх чутливість до робочої концентрації зберігалася. Автори встановили, що позаликарняні штами бактерій, які піддавали впливу біоцидів, виявляли резистентність до деяких антибіотиків з різною хімічною структурою [59].

Декілька досліджень було присвячено визначенню резистентних до антибіотиків штамів бактерій у стічних водах лікарень з високою концентрацією антибіотиків та дезінфікувальних засобів [133, 134]. Однак досліджень появи штамів бактерій, резистентних до біоцидів, у лікарняному середовищі поза стічними водами не проведено.

МЕХАНІЗМИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ БАКТЕРІЙ ДО АНТИБІОТИКІВ

Резистентність до антибіотиків може бути результатом дії як природних (внутрішньо притаманних), так і набутих механізмів. Природна резистентність — характерна особливість бактерій. Наприклад, мішень протимікробного засобу в клітині може бути відсутньою, оболонка клітини (клітинні мембрани та пептидоглікан) можуть бути непроникними до певних типів молекул або в клітинах можуть вироблятися ферменти, які розкладають молекули протимікробної речовини. Ці бактерії є клінічно резистентними, але точніше було б назвати їх «несприйнятливими», оскільки їх нечутливість може бути подолана при підвищенні концентрації протимікробної речовини до рівня, який не досягається в курсі терапії або спостерігається не завжди.

Набута резистентність штамів бактерій виникає внаслідок мутацій або отримання екзогенних генів, через горизонтальну передачу, від клітин інших штамів. Гени, які кодують ферменти, здатні змінювати структуру молекули протимікробних речовин, зазвичай передаються (*bla*-гени, котрі кодують пеніциліназу та цефалоспориназу, *aac*-гени, які кодують ацетилтрансферазу, здатну перетворювати, наприклад, антибіотики з групи аміноглікозидів, *erm*-гени, сигнали яких спричиняють модифікацію мішеней, *tesA*-гени та *van*-гени, відповідальні за резистентність до метициліну і глікопептидів відповідно).

Існують декілька механізмів горизонтальної передачі генів, які ґрунтуються переважно на мобільних генетичних елементах. Ці механізми часто діють разом [135]. Великі плазміди, носії багатьох генів, можуть передаватися від клітини до клітини при кон'югації. Транспозони також можуть бути носіями декількох генів резистентності. Вони не здатні до самостійної реплікації, але можуть переміщатися всередині генома, наприклад, від плазміди до плазміди або від хромосоми до плазміди. Інтегрони також здатні кодувати різні гени резистентності. Вони не здатні переміщатися, але кодують захват нових генів та відсічення й переміщення касет генів як усередині інтегронів, так і за його межі. Зазвичай інтегрони розташовуються на плазмідах [136], але можуть також входити до складу хромосом, наприклад, *Salmonella typhimurium* DT 104.

Основними механізмами стійкості до β -лактамних антибіотиків у ентеробактерій є продукція плазмідних і хромосомних β -лактамаз, порушення проникності зовнішньої мембрани, модифікація мішені пеніцилінз'в'язувальних білків (ПЗБ) [137]. Продукція β -лактамаз спричиняє приблизно 80 % випадків стійкості до β -лактамних антибіотиків серед ентеробактерій. Здатність до продукції цих ферментів виявлено у багатьох представників родини. Описано понад 200 ферментів, які відрізняються за субстратним профілем (здатність до переважного гідролізу певних β -лактамів, наприклад пеніцилінів або цефалоспоринів, або тих і інших однаковою мірою), локалізацією генів, котрі кодують стійкість (плазмідна або хромосомна) [137, 138]. У разі плазмідної локалізації генів відбувається швидке внутрішньо- та міжвидове поширення резистентності, у разі хромосомної — спостерігається поширення резистентного клону [139], чутливість до інгібіторів, які застосовують у медичній практиці (клавуланової кислоти, сульбактаму і тазобактаму).

Серед грамнегативних бактерій продукція β -лактамаз — одна з найчастіших причин резистентності. Бета-лактамази грамнегативних мікроорганізмів поділяють на дві групи: кодовані плазмідними або хромосомними генами. Найбільше значення для клінічної практики мають плазмідні β -лактамази розширеного спектра (БЛРС), оскільки вони здатні руйнувати всі β -лактамні антибіотики, зокрема цефалоспорини III і меншою мірою — IV покоління, за винятком карбапенемів [138, 140]. Розвиток плазмідної резистентності часто пов'язаний із використанням ампіциліну та цефалоспоринів III покоління (всі цефалоспорини III покоління

асоціюються з ризиком появи резистентності, навіть якщо їх призначають у невеликій кількості [141, 142]. Звичайні лабораторні методи оцінки чутливості до антибіотиків нерідко не виявляють цього механізму стійкості. Найчастіше БЛРС трапляються у мікроорганізмів роду *Klebsiella*, досить часто — в *E. coli* та *Proteus spp.*, рідше — в інших грамнегативних бактерій [140]. Хромосомні β-лактамази зазвичай виробляються в невеликій кількості [143], але під впливом деяких β-лактамних антибіотиків їх синтез різко зростає. Із цим пов'язаний механізм резистентності до амінопеніцилінів і цефалоспоринів I покоління у *Enterobacter cloacae*, *Serratia spp.*, *Citrobacter spp.*, *Proteus spp.* [141, 142].

Клебсієли продукують БЛРС, чим також зумовлена стійкість до більшості цефалоспоринів (окрім цефаміцинів) при збереженні чутливості до карбапенемів [142, 144]. Проте до карбапенемів також може виникнути резистентність, пов'язана з продукцією карбапенемаз [145].

АНТИБІОТИКИ, МІШЕНІ ТА АКТИВНІСТЬ

Молекули антибіотиків у складі препаратів, які застосовують у медикаментозній терапії при інфекційних захворюваннях, можна класифікувати за механізмом їх впливу на клітини бактерій. Виявлено 4 основних механізми: 1) зміна клітинної оболонки, 2) інгібування синтезу білків, 3) інгібування синтезу нуклеїнових кислот, 4) інгібування шляхів метаболічного перетворення.

Дія β-лактамних антибіотиків (пеніциліни, цефалоспорини, карбапенеми тощо), антибіотиків з родини поліміксинів, CAMPs та глікопептидів (ванкоміцин і тейкопланін) ґрунтується на порушенні синтезу стінок бактеріальних клітин (через порушення діяльності ферментів, які забезпечують останній етап синтезу пептидоглікану) або стабільності/цілісності мембран. Інгібувальна дія поліміксинів та катіонних протимікробних пептидів полягає в підвищенні проникності клітинних мембран, унаслідок цього вміст клітини (іони, АТФ тощо) потрапляє назовні. Даптоміцин, антибіотик з групи циклічних ліпопептидів, спричиняє деполаризацію зовнішньої мембрани, внаслідок чого клітина гине, шляхом введення власних ліпідів у клітинну мембрану. Ванкоміцин і тейкопланін перешкоджають зшиванню пентапептидних одиниць на етапі синтезу клітинних стінок.

БАКТЕРІЇ, РЕЗИСТЕНТНІ ДО БАГАТЬОХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Багато видів бактерій набувають резистентності до декількох класів антибіотиків (щонай-

менше, до трьох) за рахунок різних механізмів подолання шкідливого впливу при хіміотерапії із застосуванням антибіотиків. Резистентність не обов'язково обмежується нечутливістю до дії антибіотиків одного класу. Клітини можуть бути резистентними до багатьох хімічно різних сполук, які раніше не застосовували до них. Цей феномен називають «резистентністю до багатьох лікарських засобів», або полірезистентністю. Полірезистентні бактерії викликають стурбованість у лікарнях та інших закладах охорони здоров'я, де вони часто трапляються.

Головний механізм полірезистентності — активне транспортування молекул лікарських засобів із середини бактерії назовні насосами, які виводять із клітини сполуки, шкідливі для бактерій (зокрема антибіотики, біоциди). Поліспецифічність ефлюксних транспортерів визначає загальний фенотип резистентності, який підсилює ефект та/або спричиняє набуття додаткових механізмів резистентності, наприклад, мутацію мішеней антибіотиків або синтез ферментів, які змінюють молекули лікарських засобів.

Виявлено численні свідчення ролі ефлюксних білків-транспортерів, контрольованих AcrAB-TolC, у резистентності бактерій родини *Enterobacteriaceae*. Експресія цих транспортерів — важлива передумова селекції клітин-мутантів, резистентних до фторхінолону, в яких відбулася зміна ферментів-мішеней (мутація гірази і топоізомерази), грамнегативних бактерій, таких як *Salmonella* або *Campylobacter* — двох найпоширеніших патогенних мікроорганізмів у продуктах харчування [85]. Ці два механізми, які діють разом, забезпечують високу резистентність до хінолінів. Існування синергізму різних захисних механізмів нещодавно було доведено результатами дослідження впливу макролідів на клітини *Campylobacter*. Прикладом такого синергізму є захист клітин *Enterobacteriaceae* від впливу β-лактамів, CAMPs, поліміксинів [85, 146]. У цих випадках виникнення штамів бактерій-носіїв факторів резистентності спричинене селективним тиском унаслідок дії молекул з протимікробною активністю: чутливі штами гинуть, а новоутворені резистентні штами виживають та розмножуються.

Набуття резистентності завдяки мутації в хромосомі та селекції називається *вертикальною еволюцією*, оскільки набуті ознаки передаються наступним поколінням клітин однієї лінії. Резистентність бактерій також може бути спричинена отриманням нового генетичного матеріалу від інших резистентних організмів. Цей процес називається *горизонтальною пе-*

редачею і може відбуватися як серед різних штамів одного виду, так і серед бактерій різних видів або родин, які займають одну екологічну нішу. Механізмами генетичного обміну є кон'югація, трансдукція і трансформація. В усіх цих процесах беруть участь транспозони, які опосередковують переміщення та вбудування нових генів резистентності в геном клітини-хазяїна або плазміди.

СПІЛЬНІ МЕХАНІЗМИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ДО БІОЦИДІВ ТА АНТИБІОТИКІВ

Питання щодо застосування біоцидів у продуктах споживання, кількість яких постійно зростає, а також щодо можливості того, що безсистемне їх застосування може призвести до зниження ефективності біоцидів та вплинути на чутливість бактерій до антибіотиків, є важливими [22, 118, 147—152]. Це зумовлено появою резистентних штамів-мутантів при дослідженні монокультур *in vitro*. Є дані, що внаслідок впливу біоцидів можливе поширення резистентності до антибіотиків, але досліджень з використанням зразків, отриманих у лікарнях та поза ними, проведено мало. Результати недавно завершеного дослідження позалікарняних штамів підтверджують вірогідний взаємозв'язок між підвищенням МІК четвертинних сполук амонію та триклозану і резистентністю клітин до одного антибіотика або більше [153].

Для встановлення взаємозв'язку між впливом біоциду (біоцидів) та розвитком резистентності до антибіотиків необхідно провести дослідження. Дія багатьох біоцидів спрямована на множинні клітинні мішені мікроорганізмів, тому резистентність до них має бути спричинена неспецифічними механізмами. Доведено, що ефлюксні насоси виводять із клітин хімічно різні сполуки. Такі білки виявлено в складі клітин бактерій, резистентних як до біоцидів, так і до антибіотиків [57, 154]. Зміни клітинних стінок, які забезпечують непроникність клітини, також можуть бути механізмом резистентності до біоцидів. Є дані щодо зв'язування генів, які кодують резистентність до біоцидів і резистентність до антибіотиків [155].

Клітинні мішені біоцидів та різні механізми, які застосовують бактеріальні клітини для уникнення токсичного впливу біоцидів, описано в літературі [18, 57, 68, 89, 156—158]. Антибактеріальна дія антибіотиків та біоцидів має багато спільного. Існують деякі відмінності в мішенях та знищенні клітин [154]. Спільним є: а) проникнення/захват крізь оболонку клітини шляхом пасивної дифузії, б) вплив на цілісність

мембран та їх морфологічний склад, в) вплив на процеси метаболізму (реплікацію, транскрипцію, трансляцію, транспорт, різні ферменти). Відповідь/адаптація бактеріальних клітин під впливом токсичних речовин та спричиненого ним стресу процес характеризується деякими спільними механізмами, які можуть дублювати оригінальні функції та забезпечувати резистентність до структурно різних молекул. Описано штами, резистентність яких до біоцидів зумовлена як природними, так і набутими механізмами.

Природна резистентність — внутрішньо притаманна властивість, регульована геномом (притаманна виду). Наприклад, непроникність мембран, ефлюкс, утворення біоплівки та перетворення токсичних сполук. Зниження внутрішньоклітинної концентрації шкідливих молекул у грамотрицативних бактерій забезпечується зниженням проникності клітинних мембран унаслідок зменшення синтезу порину (білки в складі мембран, які утворюють пори, крізь які антибіотики проникають усередину клітини), а також модифікацією структури ліпополісахаридів [65, 84] або активацією синтезу ефлюксних насосів (білкові мембранні комплекси, які забезпечують експорт антибіотиків) [154]. Усі ці механізми забезпечують резистентність як до антибіотиків, так і до біоцидів [159]. Паралельно може виникнути набута резистентність унаслідок мутацій та приєднання мобільних елементів ДНК (транспозонів, плазмід), які кодують речовини, котрі забезпечують резистентність (ферменти, білки-транспортери). Набута резистентність може захищати клітини від впливу як антибіотиків, так і біоцидів [57]. Деякі механізми, котрі забезпечують резистентність, контролюються різними генетичними каскадами, які регулюються спільними генами (*soxS*, *marA*) [154].

Більшість бактерій розташовуються на поверхнях та розмножуються в біоплівці, планктонні клітини трапляються рідко. Резистентність до біоцидів та антибіотиків бактеріальних клітин у біоплівках, за висновками всіх дослідників, є вищою, ніж у планктонних клітин [47, 118, 160, 161]. Причина зниженої чутливості — зміна фенотипу, спричинена умовами існування в біоплівці [162], зокрема уповільненням метаболічних процесів, нерухомістю, зниженою проникністю внаслідок утворення позаклітинного полімерного матриксу [163], ферментною інактивацією біоцидів [78, 164], а також активацією оперонів та ефлюксних насосів, здатних виводити різні лікарські речовини [119]. Хоча відомо, що резистентність бактерій до біоцидів

та антибіотиків у біоплівках є вищою, зв'язок між застосуванням біоцидів для усунення бактеріальних біоплівок та виникненням резистентності до антибіотиків не є безпосереднім. За даними дослідження результатів застосування хлораміну в питній воді і впливу хлораміну на біоплівки, утворені *P. aeruginosa*, підвищення резистентності до антибіотиків досліджених клітин не виявлено [165].

РЕЗИСТЕНТНІСТЬ ДО АНТИБІОТИКІВ, СПРИЧИНЕНА ВПЛИВОМ БІОЦИДІВ

Ключовим питанням є, чи спричиняє застосування біоцидів селекцію бактерій, резистентних до антибіотиків. Остаточний висновок зробити важко, оскільки: а) наявні дані отримано у дослідженнях окремих речовин або окремих клітин бактерій, б) існує відмінність між результатами аналізу *in vitro* та *in vivo*.

За результатами недавно завершених досліджень двох поширених патогенних організмів — *Salmonella enterica* та *Stenotrophomonas maltophilia* встановлено вплив триклозану на виникнення перехресної резистентності бактерій. Автори першого дослідження, в якому вивчали штами *Salmonella*, повідомляють, що чутливість до антибіотиків штамів, оброблених триклозаном, порівняно зі штамом дикого типу, є зниженою [166]. Активацію експресії білків ефлюксних насосів (SmeDEF), які визначають резистентність до антибіотиків, спостерігали в різних клонах, отриманих після обробки триклозаном [167]. У пізніше проведеному дослідженні виявлено зміну реакції на антибіотики клітин *S. enterica serovar Typhimurium*, які вижили після обробки різними дезінфікувальними засобами в низькій концентрації [92]. За висновком авторів, розмноження клітин *Salmonella* в середовищі з концентрацією біоцидів, нижчою за інгібувальну, спричиняє появу штамів, резистентних до антибіотиків різних класів. Проведено також дослідження впливу триклозану та фенольних дезінфікувальних засобів сільськогосподарського призначення на селекцію штамів *Stenotrophomonas maltophilia*, резистентних до антибіотиків [167]. В іншому дослідженні виявлено активацію систем експорту багатьох лікарських речовин з клітин *Pseudomonas aeruginosa* внаслідок обробки хлоргексидином [168]. Така обробка клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* призводила до селекції штамів, здатних до підвищеної експресії декількох генів резистентності [169].

Схожі результати отримано при дослідженні клітин *S. enterica* та *Escherichia coli* [170].

Штами *E. coli* O157, збудника «гамбургерної хвороби», набували високої резистентності до триклозану лише після двох обробок речовиною в концентрації, нижчій за летальну. Після цього спостерігали стійке зниження чутливості до різних антибіотиків, зокрема до хлорамфеніколу, еритроміцину, іміпенему, тетрацикліну і триметоприму, а також до деяких біоцидів. Наведені дані свідчать про небезпечність безсистемного та часто недоречного використання біоцидів, особливо триклозану, а також підтверджують можливість впливу, який спричиняє виникнення механізмів резистентності мікроорганізмів. Результати добре спланованого дослідження довели, що механізми резистентності до біоцидів (наприклад, полікватерніуму-1) та антибіотиків є спорідненими на генетичному рівні [171]. Дослідження транскрипційних змін виявило, що паракват активує експресію декількох генів, які спричиняють резистентність до антибіотиків [172].

ЗВ'ЯЗОК МІЖ ЗАСТОСУВАННЯМ БІОЦИДІВ ТА РЕЗИСТЕНТНІСТЮ ДО АНТИБІОТИКІВ

Проведено низку лабораторних досліджень для встановлення можливих зв'язків між застосуванням біоцидів та резистентністю до антибіотиків [49, 53, 149, 170, 173—175]. Ця гіпотеза не є новою. Дані низки досліджень свідчать про можливість існування такого зв'язку при застосуванні різних біоцидів, наприклад, триклозану [98, 99, 149, 167, 170, 174], хлоргексидину [49, 175, 176], а також четвертинних сполук амонію [53, 173]. За результатами багатьох лабораторних досліджень, резистентність до біоцидів та антибіотиків спричинена спільними механізмами, такими як непроникність клітинної стінки [74], наявність ефлюксних насосів, здатних до виведення лікарських речовин [92, 97, 99, 177—179], підвищення експресії компонентів носіїв багатьох генів або оперонів, наприклад, *mar* [51, 99], *soxRS* та *oxyR* [46, 98, 179], а також модифікація мішені [52].

Селективний тиск, спричинений впливом біоцидів, призводить до підвищення резистентності антибіотиків. Так, повідомлено про поширення генів *qac* під впливом катіонних біоцидів, наслідком цього стало збільшення клітин з ефлюксними насосами, здатними до виведення багатьох лікарських засобів [91, 93, 180, 181].

Хлорування також призводить до зростання резистентності до антибіотиків. За даними низки досліджень, встановлено безпосередній зв'язок між впливом біоцидів та резистентністю

до антибіотиків [99, 173, 182—184]. Одноразова обробка клітин консервантом, нітратом натрію, бензоатом натрію або оцтовою кислотою, призводить до множинної резистентності бактерій до антибіотиків (тетрацикліну, хлорамфеніколу, налідиксинової кислоти та ципрофлоксацину), хоча резистентність до їх концентрацій, які застосовують у клінічній практиці, не відзначено. Перехресна резистентність виникала внаслідок мутацій гена *mar* [185].

Нещодавно L. Randall та співавт. [92] виділили мутантів клітин *S. enterica*, резистентних до антибіотиків унаслідок обробки розчинами низької концентрації дезінфікувальних засобів (на основі альдегідів, окиснювачів, четвертинних сполук амонію або фенолів). Зміна чутливості до антибіотиків залежала від виду дезінфікувального засобу, а також від спричинених його впливом мутацій. Після обробки дезінфікувальним засобом на основі альдегіду резистентність клітин-мутантів до ципрофлоксацину була зумовлена або одним з ефлюксних механізмів, або мутацією *GyrA* [92]. Вплив біоцидів на бактеріальні клітини є комплексним. Виникнення перехресної резистентності бактерій після впливу біоцидів визначається переважно особливостями штаму, а не виду або генетичними особливостями [139].

Дані інших досліджень не підтверджують наявність прямого зв'язку між впливом біоцидів та резистентністю до антибіотиків, хоча виявлено зміну чутливості досліджених штамів бактерій до антибіотиків [44, 50, 53, 60, 132, 186]. Є повідомлення про зменшення чутливості клітин *E. coli* до триклозану при багаторазовому впливі, але така реакція не є обов'язковою для інших грамнегативних бактерій [187, 188]. У випадках, коли спостерігали зменшення чутливості до триклозану, не виявлено спричиненого ним зниження чутливості до інших біоцидів та антибіотиків. Наявністю кон'югованих плазмід пояснюють ко-резистентність до деяких біоцидів, таких як катіонні сполуки [62, 189], солі металів (наприклад, ртуть-органічних сполук) та антибіотиків.

ЗВ'ЯЗОК МІЖ БІОЛОГІЧНОЮ ДОСТУПНІСТЮ БІОЦИДІВ ТА ВИНИКНЕННЯМ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У БАКТЕРІЙ

Вплив біоцидів на чутливість бактерій до антибіотиків визначається опосередковано. Спершу популяцію бактерій обробляють біоцидом, після чого визначають чутливість бактерій, які вижили, до антибіотиків. Досліджень впливу

на бактерії при комбінованій обробці із застосуванням біоциду та антибіотика не проводили.

При проведенні досліджень для визначення чутливості до антибіотиків бактерій, резистентних, стерпних або з підвищеною нечутливістю до біоцидів, застосовували різні протоколи. Однак різноманітність експериментальних умов викликає сумніви в обґрунтованості обраних протоколів. У деяких дослідженнях підтвердження чутливості до антибіотиків ґрунтується на вимірюванні розміру зони інгібування [49, 60]. В інших застосовували стандартизовані методики визначення чутливості до антибіотиків, наприклад, рекомендовані Британським товариством протимікробної хіміотерапії (British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC)) або Інститутом клінічних та лабораторних стандартів (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)). Лише деякі дослідження проведено для визначення підвищення нечутливості до антибіотиків після невдалої терапії [59]. Аналізувати результати таких досліджень складно через численність запропонованих протоколів, відсутність методології чіткого порівняння та критеріїв (еталонні штами, еталонні молекули, еталонні зразки для аналізу тощо), що може спричинити появу величезної кількості непридатних для порівняння та використання даних.

Бактерії, резистентні до інактивації хімічними дезінфікувальними засобами, часто трапляються в різних водних середовищах, але цю резистентність найчастіше пояснюють фізичними причинами, наприклад, приєднанням клітин до твердих поверхонь або об'єднанням у біоплівку. Важливе значення має захист, зумовлений генотипом (наявність захисної капсули або спор), а також зовнішні абіотичні чинники, такі як хімічна реакція дезінфікувального засобу з іншими молекулами у водному середовищі.

Отже, при визначенні показника доза-ефект, важливо враховувати умови попереднього росту, а також зовнішні чинники, які можуть істотно вплинути на результат.

Результати досліджень, у яких використано штами *E. coli* як модель, свідчать про якісний вплив на резистентність до дезінфікувальних засобів умов середовища для росту, температури та щільності популяції мікроорганізмів.

Гіпотетично, популяція, яка росте швидше, є чутливішою. Температура впливає на текучість ліпідів у мембрані [84]: мембрани з меншою проникністю уповільнюють транспорт дрібних часток (наприклад, іонів K^+), які мають важливе значення для життєдіяльності клітини.

У літературі описано зміни мікробіоти після впливу біоцидів. Для відтворення комплексної системи біоплівки, які існують у довкіллі, визначення змін у популяції мікроорганізмів та змін їх чутливості внаслідок впливу біоцидів проведено тестування в мікрокосмах [190, 191]. Результати дослідження з використанням зразків мікрокосму стічних труб показало, що при багаторазовому впливі четвертинних сполук амонію спостерігаються лише незначні зміни в динаміці популяції, а у профілі чутливості мікрокосму відсутні зміни [190]. Результати дослідження, проведеного пізніше, свідчать про клональну експансію *Pseudomonads* при зменшенні кількості грампозитивних видів унаслідок впливу четвертинних сполук амонію, а також про зниження чутливості до біоцидів частини видів бактерій [191]. За даними ще одного дослідження, метою якого було визначити зміни в популяціях бактерій в активованому мулі під впливом бензалконію хлориду (четвертинних сполук амонію), після обробки відбувалися зміни у складі популяцій з переважанням штамів *Pseudomonas spp.* [192]. Автори недавно проведеного дослідження, які вивчали вплив триклозану на утворення біоплівок на стінках уретральних катетерів, довели селективний вплив бісфенолу. Хоча триклозан пригнічував розмноження *Proteus mirabilis*, його вплив на інші поширені патогенні мікроорганізми був мінімальним [193].

РИЗИКИ, ПОВ'ЯЗАНІ З РЕЗИСТЕНТНІСТЮ ДО АНТИБІОТИКІВ, ЗУМОВЛЕНОЮ ВПЛИВОМ БІОЦИДІВ

Резистентність до антибіотиків, спричинена впливом біоцидних продуктів, може бути безпосередньою або опосередкованою небезпекою, яка виникає внаслідок передачі механізму (механізмів) резистентності. Безпосередня небезпека полягає в селекції та поширенні бактерій, які мають механізми резистентності до біоцидів, антибіотиків або обох видів протимікробних речовин (наприклад, виникнення адаптованих штамів бактерій унаслідок селективного тиску, зміна популяцій у певних екологічних нішах, поширення нового штаму та інфікування ним людини). Опосередкована загроза полягає в передачі мобільних генетичних елементів (плазмід, транспозонів тощо), носіїв генів, які кодуєть резистентність до біоцидів, антибіотиків або обох видів протимікробних речовин, у клітин, котрі є природно чутливими, внаслідок генетичного обміну (наприклад, при контактах із симбіотичною мікрофлорою). У деяких випадках обидві ці не-

безпеки існують одночасно: додаткові генетичні елементи передаються від одних резистентних бактерій іншим резистентним бактеріям, як наслідок — рівень резистентності зростає.

Передача генетичних елементів, які кодуєть резистентність, може відбуватися де завгодно: в довкіллі (наприклад, у воді, ґрунті), організмі тварин або людини (резидентна/симбіотична мікрофлора), харчових продуктах.

У дослідженні позалікарняних штамів, отриманих з автоматичних устаткувань для очищення та дезінфекції ендоскопів (automated endoscope washer disinfectant (AWD)), отримано цікаві дані. У зразках із устаткування для очищення та дезінфекції, а також з оброблених ендоскопів дедалі частіше виявляють мікроорганізми [44, 194—197]. Є декілька повідомлень про виявлення штамів *Mycobacterium chelonae*, резистентних до 2 % глутаральдегіду [43].

У зразках, отриманих з AWD після дезінфекції із застосуванням високоефективного засобу — двоокису хлору, встановлено наявність вегетативних клітин *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus intermedius*. Перевірка чутливості, проведена методом стандартного суспензійного тесту, показала, що більшість із цих ізолятів зберігають чутливість до інших окисників [198]. Важливими чинниками, які зумовлюють зниження чутливості до біоцидів, вважають низькі концентрації дезінфікувальних засобів [57] або утворення біоплівок [47, 199]. Утворення бактеріальних біоплівок, що зумовлює появу резистентності до протимікробних засобів, — одна з головних проблем, з якою стикаються в медичній практиці, особливо це стосується медичних інструментів [200, 201].

А. Rajkos та співавт. [199] пояснюють відсутність бажаного результату при застосуванні високоефективних дезінфікувальних засобів для обробки ендоскопів наявністю біоплівок, які дуже часто утворюються та мають велику площу, на внутрішніх поверхнях трубок ендоскопів. J.C.N. Shackelford та співавт. [202] повідомляють про зниження активності *in vitro* навіть такого високоефективного дезінфікувального засобу, як орто-фталальдегід, щодо біоплівок, утворених мікобактеріями, але не до біоплівок, утворених клітинами *Pseudomonas aeruginosa*. Хоча збудниками більшості ВЛІ є бактерії, що містяться саме в біоплівках, у більшості лабораторій для визначення ефективності біоцидів біоплівки не застосовують. Немає європейських стандартів для перевірки активності щодо біоплівок дезінфікувальних засобів, призна-

чених для застосування в закладах охорони здоров'я [117].

Зв'язок між біоцидами та резистентністю до антибіотиків мікроорганізмів у закладах охорони здоров'я є дуже важливим питанням. Виникнення клінічно значущої резистентності доведено лише в окремих випадках. У цих випадках йшлося про резистентність до застарілих антибіотиків з обмеженим застосуванням (наприклад, резистентність *E. coli* до хлорамфеніколу, *P. aeruginosa* — до тетрацикліну) [22]. Проведено декілька досліджень для оцінки чутливості бактерій, резистентних до антибіотиків, до дезінфікувальних засобів. Доведено, що чутливість до цих засобів ізолятів бактерій, резистентних до антибіотиків, є не нижчою, ніж у інших штамів, чутливих до антибіотиків [203—205]. На підставі отриманих даних було зроблено висновок, що резистентність до антибіотиків не потребує внесення змін у протоколи дезінфікувальної обробки [206, 207].

База доказів резистентності до біоцидів та її зв'язку з резистентністю до антибіотиків потребує поповнення. Необхідно розробити правила проведення тестування для визначення резистентності до біоцидів, а також ефективну систему контролю. Контрольні та дослідницькі лабораторії мають проводити оцінку резистентності до біоцидів усіх важливих мікроорганізмів при виникненні нової або множинної резистентності до антибіотиків [117].

Необхідно привернути увагу до правильного застосування дезінфікувальних засобів та антисептиків. Санітарно-медичний персонал слід навчити виконувати прості та узгоджені правила, уникати зайвого та неправильного застосування біоцидів (наприклад, обирати засіб з урахуванням оцінки ризику; застосовувати обраний продукт відповідно до вимог щодо тривалості обробки, концентрації, кислотності або температури, видаляти органічне забруднення з поверхні інструментів перед їх дезінфекцією). Слід також упровадити вдосконалену практику належного використання антибіотиків для лікування або профілактики захворювань. Р. Gilbert та А. McBain [208] вважають, що ризик, спричинений надлишковим застосуванням біоцидів у закладах охорони здоров'я є перебільшеним, але для поліпшення гігієни рекомендують звернути особливу увагу на ті сфери їх застосування, де користь є незаперечною.

Для вивчення небезпеки, пов'язаної з резистентністю мікроорганізмів у навколишньому середовищі до багатьох лікарських речовин, дуже важливо визначити, чи є концентрація

біоцидів у навколишньому середовищі, а саме, на заводах з переробки стічних вод та в очищеній воді, біологічно значущою, а не просто констатувати їх наявність у воді.

Одним із найкраще вивчених прикладів є триклозан. Доведено, що 79 % триклозану у воді, яка надходить на заводи з обробки стічних вод, видаляється внаслідок біологічного розкладення, ще 15 % — абсорбується активованим мулом, тому очищена вода, яка скидається у водойми, містить, приблизно 6 % триклозану [209]. Згідно з результатами перевірки на досліджених заводах на відміну від досить високого рівня видалення триклозану з води на заводах з очищення стічних вод, його вміст в очищеній воді становить 42—213 нг/л, а у водоймах, куди скидають очищену воду, — 11—98 нг/л. Наведені дані свідчать про концентрації, нижчі за встановлені у попередніх дослідженнях стічних вод (0,07—14 000 мкг/л), можливо, через значну відмінність у технічних можливостях перевірених систем очищення або у методах перевірки [210, 211]. Рівень триклозану в поверхневих водах (водотоках) становить від 50 до 2 300 нг/л [266, 269], у морській воді — 50—150 нг/л [213], а в осадах — 1—35 мкг/кг [214].

Метою порівняльних досліджень довкілля було визначити щільність популяцій, гетеротрофну активність, здатність гетеротрофних бактерій до біологічного розкладення в місті знаходження, в екосистемі озер після обробки довголанцюговими (C_{12} — C_{18}) четвертинними сполуками амонію [215]. Проведена перевірка із застосуванням моноалкільних та двоалкільних заміщених четвертинних сполук амонію в різних концентраціях (від 0,001 до 10 мг/л) та результати, отримані при короткотривалому (3 год) і тривалому впливі (21 день), засвідчили, що жоден із застосованих розчинів четвертинних сполук амонію вірогідно негативно не впливає на щільність популяції бактерій. Доведено, що хронічний вплив на озерні бактеріальні угруповання специфічних моноалкільних четвертинних сполук амонію призводить до адаптивної реакції та відновлення гетеротрофної активності. Подальші дослідження здатності до адаптації [216], виявили, що штам *Pseudomonas fluorescens* TN4, виділений зі зразків, отриманих на заводах з очищення стічних вод, здатні розкладати хлорид дидецил-диметиламонію (ДДАХ) з утворенням проміжного продукту — децил-диметиламіну та кінцевого продукту — диметитиламіну.

Бактерії штаму TN4 здатні також до утворення інших четвертинних сполук амонію,

солей алкілтриметилу та алкіл-бензил-диметиламонію, але не солей алкілпіридину. Клітини штаму TN4 характеризувалися дуже високою резистентністю до досліджених четвертинних сполук амонію, розклад яких відбувався внаслідок процесу *n*-деалкіляції [216]. Незважаючи на таку адаптивну відповідь, імовірно, внаслідок застосування цих сполук у великій кількості, дуже високий вміст четвертинних сполук амонію, особливо бензалконію хлориду з довжиною ланцюга C_{12} , а також довголанцюгового хлориду діалкіл-диметиламонію (ДДАХ- C_{18}), визначають в осадах поверхневих вод — 3,6 та 2,1 мг/кг відповідно [217].

Наведені дані свідчать про потрапляння значної кількості біоцидів як до найближчого середовища (кухонна мийка), так і до віддаленого (заводи з очищення стічних вод та поверхневі води).

Питання щодо впливу цих концентрацій у довкіллі, внаслідок чого можливе виникнення резистентності мікроорганізмів, вивчали А.Д. McBain та співавт. [190] методом градієнтних планшетів із застосуванням триклозану. Вони обробляли штами різних бактерій, зокрема *Streptococcus oralis*, *S. sangula*, *S. mutans*, *Neisseria subflava* та резистентний до триклозану штам *Escherichia coli* (ATCC 8739) триклозаном у сублетальній концентрації, яку збільшували. МІК хлоргексидину, метронідазолу і тетрацикліну визначали перед та після обробки біоцидом. Отримані дані не підтверджують біологічно значущого підвищення резистентності до лікарських речовин бактерій, оброблених триклозаном, яке було доведено раніше для клітин *E. coli*, що є підставою для висновку, що резистентність до лікарських засобів, спричинена впливом триклозану, виникає не завжди і не передається іншим видам бактерій.

А.Д. McBain та співавт. [188] також вивчили наслідки короткотривалого (12 днів) та довготривалого (3 міс) впливу мийного засобу на основі четвертинних сполук амонію на зразки біоплівки, отримані з побутових водостоків. За результатами електрофорезу в гелі зі змінною концентрацією речовини, яка спричиняє денатурацію, було встановлено, що в мікрокосмі переважають *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*, *Erwinia* та *Enterobacter*. Доведено, що кількість аеромонад збільшується внаслідок впливу мийних засобів, які містять 10—50 % четвертинних сполук амонію. Тривалий вплив таких засобів вірогідно не змінює чутливість бактерій до протимікробних засобів, що свідчить про те, що, хоча зміну чутливості до протимікробних речо-

вин (резистентність до багатьох речовин) виявлено при дослідженні ізолятів бактеріальних культур, такі зміни не обов'язково відбуваються в комплексних угрупованнях мікроорганізмів.

За результатами лабораторних досліджень зафіксовано випадки виникнення резистентності до антибіотиків, зумовленої впливом біоцидів, унаслідок п'яти процесів:

1. Виникнення перехресної резистентності за рахунок селекції генів, які кодують резистентність, як до речовини-біоциду, так і до антибіотиків одного або більше класів. Термін «перехресна резистентність» означає наявність механізму, який забезпечує виживання штаму при впливі різних речовин протимікробної дії.

2. Зміна фізіологічної відповіді бактерій унаслідок обробки біоцидом, що призводить до зниження чутливості як до біоцидів, так і до антибіотиків.

3. Виникнення ко-резистентності: селекція клонів або мобільних елементів-носіїв генів, які кодують резистентність до речовин протимікробної дії. Термін «ко-резистентність» означає наявність генетичних детермінант, котрі забезпечують резистентність, на тому самому позахромосомному елементі, які паралельно передаються та діють при потраплянні в нову бактеріальну клітину-хазяїна.

4. Опосередкована селекція бактеріальної субпопуляції внаслідок обробки біоцидом, що призводить до зниження чутливості як до біоцидів, так і до антибіотиків.

5. Активація відновлення ДНК, наприклад, за рахунок підвищення рівня відповіді, опосередкованого SOS24.

На жаль, у доступній літературі не знайшли результатів визначення можливості одночасної дії всіх зазначених процесів. Зазвичай дослідники обмежуються вивченням одного або двох процесів, тому, можливо, упускають важливу інформацію щодо зв'язків між резистентністю до біоцидів та антибіотиків.

Механізми виникнення перехресної резистентності до антибіотиків добре вивчено. Антибіотики — різноманітна група речовин, які традиційно поділяють на класи за структурними особливостями молекул та механізмом дії. Мішень у бактеріальній клітині, а також механізми дії антибіотиків, які належать до одного класу, є однаковими або подібними. Отже, деякі механізми резистентності забезпечують резистентність клітин до більшості або всіх представників одного класу антибіотиків, тобто перехресну резистентність. Може також спостерігатися перехресна резистентність до антибіотиків з

хімічно відмінних класів, якщо клітинні мішені їх дії збігаються (наприклад, у антибіотиків класу макролідів та лінкозамідів), а також у разі низької специфічності механізму резистентності.

Випадки перехресної резистентності до біоцидів та антибіотиків спостерігаються вкрай рідко. Зазвичай резистентність опосередкована активацією ефлюкських насосів, унаслідок чого знижується чутливість клітин до обох видів протимікробних речовин [83, 85, 159]. Однак є повідомлення про зміни клітинної стінки (через зниження виділення поринів, зміни в складі ЛПС та інших ліпідів) [18, 84, 218]. Бактеріальні біоплівки також забезпечують резистентність до антибіотиків і біоцидів.

Ко-резистентність виникає, якщо механізми, котрі зумовлюють резистентність або зниження чутливості, об'єднані генетично. Гени, які забезпечують резистентність до протимікробних речовин, часто містяться у великих генетичних елементах, таких як інтегрони, транспозони або плазміди, тому можуть діяти паралельно з іншими генами резистентності. В таких випадках множинні гени резистентності можуть передаватися до іншої клітини всі разом. Отже, при селективній активації одного гена резистентності відбувається активація й інших. Цей процес зумовлює стерпність грамнегативних бактерій до четвертинних сполук амонію. Ці *qac*-гени, часто разом з *sul1*-генами, які кодують резистентність до сульфонамідів, входять до складу мобільних генетичних елементів, які можуть нести також інші гени резистентності [219, 220]. Носіями генів резистентності можуть бути як мобільні генетичні елементи, так і хромосоми бактерій. Описано випадок ко-резистентності клітин *Salmonella enterica* до солей металів, таких як ртуть-органічні сполуки [221]. Вплив біоцидів супроводжується сильним стресом. Імовірно, вплив біоцидів може спричинити SOS-відповідь бактеріальних клітин, активацію горизонтальної передачі генів резистентності [222, 223].

Дані лабораторних досліджень свідчать про те, що під впливом біоцидів відбувається опосередкований селективний відбір клітин, резистентних до антибіотиків, шляхом клонального зсуву популяції та збільшення кількості резистентних бактеріальних клітин. Одним із прикладів є поява резистентного до багатьох лікарських засобів штаму *Salmonella enterica* серовару *Typhi murium* DT104, яка спричинила загальне підвищення резистентності до антибіотиків багатьох видів *Salmonella*, виділених з організму свійської худоби та людини в багатьох країнах [224, 225].

Результати досліджень *in vitro* свідчать, що у відповідь на вплив біоцидів швидко розвивається резистентність бактерій. Початкова відповідь клітин на стрес, спричинений біоцидом у концентрації, нижчій за летальну, є швидкою. Підтвердженням її є ознаки SOS-відповіді або непрямий доказ — зміна кривої показників розмноження за наявності біоциду [63].

Зробити остаточний висновок щодо поширення резистентності бактерій до біоцидів у реальних умовах дуже важко, переважно через брак даних. Оскільки одним із чинників виникнення резистентності є концентрація біоциду, можна припустити, що у випадках впливу біоцидів у низькій концентрації, можливі зміни: а) бактеріального угруповання, б) бактеріальної популяції, в) фенотипу бактерій унаслідок селективного стресу. Однак без результатів досліджень у конкретному місці загальний ризик виникнення резистентності можна оцінити лише за даними, отриманими *in vitro*.

Відомо, що здатність бактерій виживати за наявності біоцидів або антибіотиків зумовлена низкою механізмів. І якщо це підтверджено даними лабораторних досліджень, то даних, отриманих у реальних умовах, бракує. Лабораторні дослідження клінічних та позалікарняних штамів свідчать про те, що виживаність цих клітин за наявності біоцидів є вищою, ніж у стандартних культурах.

До біологічної безпеки можна віднести генетичний механізм — передачу генів резистентності та модифікацію фізіологічного стану клітин (утворення біоплівки).

Генетичний механізм — передача генів резистентності

Мобільні генетичні елементи (МГЕ) відіграють важливу роль у процесі еволюції бактерій. Вони забезпечують можливість перестановки або обміну ДНК клітин, що збільшує генетичну різноманітність та гнучкість геномів [135, 226]. Серед типів МГЕ особливе місце посідають геномні острівці (genomic islands (GEI)), оскільки вони вбудовані в хромосоми клітини-хазяїна, отже їх наявність є постійною. Мобільні GEI, здатні відриватися від хромосоми, передаватися та інтегруватися в хромосоми нової клітини, називають інтегрованими та кон'югованими елементами. GEI можуть бути носіями поширеної інформації, що зумовлює кодування додаткових функцій, потенційно корисних для клітини-хазяїна, наприклад, здатність до розмноження за наявності антибіотиків або солей важких металів, інвазії в еукаріотичні тканини унаслідок підвищення вірулентності, а також

здатність до розмноження за наявності ароматичних сполук [135, 227].

У 2002 р. проведено дослідження низки клінічних ізолятів стафілококів, резистентних до бензалконію хлориду, який належить до четвертинних сполук амонію, для визначення їх чутливості до антибіотиків (83 % резистентних штамів мали в плазміді *qacA/B* та *qacC*-гени) [220]. Встановлено наявність генетичної спорідненості резистентності до продуктів на основі бензалконію хлориду та пеніциліну. В 44 % випадків резистентність була спричинена появою лактамази, кодованої генами з плазмід, які опосередковують резистентність до дезінфікуючого засобу. Частота випадків резистентності до різних антибіотиків клітин, резистентних до четвертинних сполук амонію (QAC), носіїв *qac*-генів, вірогідно вища за резистентність клітин, чутливих до четвертинних сполук амонію. В складі деяких клітин виявлено плазмідно-носії генів резистентності до багатьох засобів, зокрема *qac*-, *bla*- і *tet*-генів.

Отримані результати збігаються з результатами досліджень властивостей клітин, які внаслідок селективного впливу мають гени резистентності як до дезінфікуючих засобів, так і до антибіотиків. Вони свідчать про те, що наявність *qac*-генів призводить до появи стафілококів, резистентних до антибіотиків [228]. Раніше повідомлялося про генетичну спорідненість генів резистентності до дезінфікуючих засобів (*qac*-генів) і генів резистентності до антибіотиків (*blaZ*, *aacA-aphD*, *dfrA* та *ble*), носієм яких є одна плазміда стафілококів, виділених зі зразків, отриманих у клініках та з харчових продуктів [219, 220], а також про географічну поширеність стафілококів-носіїв генів резистентності [114, 229]. Наведені висновки є дуже важливими, оскільки такі дослідження проводять вкрай рідко. Подібні мобільні елементи, носії генів резистентності до біоцидів та антибіотиків, було виявлено і в клінічних ізолятах іншого патогенного організму, який часто уражає людину, — *Pseudomonas aeruginosa* [230—233]. Таким чином, відокремлення/переніс генів резистентності до біоцидів та антибіотиків носіями МГЕ асоціюється з вірогідним ризиком селекції та поширення бактерій, резистентних до багатьох лікарських засобів.

Неконтрольоване застосування біоцидів може призвести до появи бактерій-носіїв МГЕ і сприяти вертикальній та горизонтальній передачі цих мобільних елементів іншим бактеріям (як того самого, так і інших видів) у спільній екологічній ніші. Бактерії, які містяться в ґрунті, можуть бути природним резервуаром генів

резистентності, який забезпечує поширення та реорганізацію генетичних елементів [234].

БІОПЛІВКИ

Бактерії здатні адаптуватися до змін за наявності стресів, спричинених зовнішніми умовами, інгібувальних сполук, а також до імунного захисту. Одним із прикладів адаптації бактерій, опосередкованої систематизованою дією генів, є здатність розмножуватися у складі нерухомих угруповань, відомих як біоплівки.

Біоплівки — обцинна структура мікроорганізмів, оточених екзополімерною оболонкою, які утворюються на природних та штучних (абіотичних) поверхнях [235]. Визнано, що утворення біоплівок є важливим чинником виникнення багатьох, якщо не всіх захворювань, збудниками яких є бактерії, зокрема ендокардитів серцевих клапанів, остеомієлітів, карієсу, запалень середнього вуха, ускладнень, пов'язаних із застосуванням медичних інструментів, інфекційних уражень ока після встановлення імплантів, а також хронічних інфекційних захворювань легень пацієнтів, які страждають на муковісцидоз [236].

При скупченні бактеріальних клітин у біоплівці вони адаптуються до стресу, спричиненого впливом протимікробних засобів ефективніше, ніж клітини в планктонній формі. Концентрації антибіотиків, потрібні для інгібування штамів бактерій у сталих біоплівках, у 10—1000 разів перевищують такі, які пригнічують розмноження клітин того самого штаму в планктонній формі [237]. Це означає, що за наявності антибіотиків у терапевтичній концентрації життєздатність біоплівок є вірогідно більшою, що підтверджується стабільним збільшенням біоплівки [238].

Бактерії, які входять до складу біоплівки, є більш резистентними до дії біоцидних речовин. Прикладами цього є зниження чутливості до триклозану, виявлене при дослідженні *Proteus/Providencia* [129, 239], збільшення виживаності клітин *Enterobacter sakazakii* при впливі четвертинних сполук амонію [240], а також резистентність до перекису клітин *Listeria* в біоплівках [163]. Резистентність до клінічно важливих антибіотиків та біоцидів може пояснюватися дією спільних механізмів, а саме високою концентрацією бактерій у біоплівці, модифікацією фізіологічного стану бактеріальних клітин у біоплівках, зниженням швидкості розмноження, обмеженою проникністю протимікробних засобів у біоплівку, а також експресією генів, котрі кодують резистентність [237]. Хоча деякі автори повідомляють про вплив зміни фізіологічного

стану бактеріальних клітин на резистентність до антибіотиків або біоцидів, а також про високу ймовірність спільного механізму резистентності, даних щодо перехресної резистентності нерухомих бактерій до антибіотиків та біоцидів дуже мало. Результати одного дослідження [165], метою якого було з'ясувати, чи спричиняє вплив хлорованої питної води на біоплівки, утворені клітинами *Pseudomonas aeruginosa*, появу бактерій, резистентних до антибіотиків, свідчать про те, що вплив хлораміну не призводить до підвищення резистентності цього виду до антибіотиків.

РИЗИК ПОЯВИ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ВНАСЛІДОК ВПЛИВУ БІОЦИДІВ

Слід урахувати можливість появи унаслідок впливу біоцидів бактерій, резистентних або нечутливих. Результати низки досліджень підтвердили появу резистентних клонів бактерій, хоча фенотип, яким зумовлена резистентність до антибіотиків, у деяких з цих досліджень, не визначали. У низці лабораторних досліджень на масштабних моделях доведено появу бактерій з підвищеною стерпністю до біоцидів після обробки розчинами біоцидів низької концентрації [49, 50, 53, 61, 62]. W.H. Gaze та співавт. [241] повідомили про появу штамів, резистентних до четвертинних сполук амонію, в природному середовищі внаслідок впливу четвертинних сполук амонію. Описано випадок утворення маленьких змінених колоній *S. aureus* під впливом триклозану, що може стати причиною зниження здатності правильно ідентифікувати штам та призвести до діагностичних помилок при лікуванні [242].

Застосування антибіотиків є головною причиною резистентності до антибіотиків у клінічній практиці. Оскільки резистентність до антибіотиків є серйозною проблемою, яка обмежує здатність лікувати інфекційні захворювання, стратегії контролю за інфекціями мають важливе значення. Однією із стратегій є профілактика, яку забезпечують використанням заходів гігієни, зокрема доцільним застосуванням біоцидів [243].

БРАК ІНФОРМАЦІЇ У ДОСТУПНІЙ ЛІТЕРАТУРІ

Під час аналізу встановлено відсутність важливої інформації, зокрема даних, отриманих у дослідженнях, проведених у навколишньому середовищі, метою яких є ідентифікація і характеристика резистентності та перехресної резистентності до антибіотиків унаслідок застосування або неправильного застосування біоцидів.

Результати досліджень *in vitro* свідчать про те, що деякі біоциди при застосуванні в концентраціях, нижчих за летальні, здатні запускати механізми резистентності до антибіотиків та/або спричиняти селективний відбір бактерій, резистентних до антибіотиків. Епідеміологічні дані щодо їх значення для охорони здоров'я відсутні.

Обсяг впливу на бактерії біоцидів та/або їх метаболітів у різних галузях оцінити неможливо через відсутність даних щодо обсягів виробництва та застосування, брак лабораторних досліджень впливу низької концентрації біоцидів.

Всупереч вимогам регуляторних органів про необхідність дослідження стабільності хімічних продуктів при потраплянні в навколишнє середовище, даних щодо розкладання та концентрації біоцидів у довкіллі мало. Відсутня затверджена методологія визначення відношення доза-відповідь, а також порогу концентрації, за якого запускаються механізми виникнення резистентності до антибіотиків та/або селекції резистентних бактерій.

Доведено роль бактеріальних біоплівок у збільшенні резистентності до біоцидів та антибіотиків. Бактеріальні біоплівки дуже часто спостерігають у довкіллі. Однак більшість лабораторій не використовують зразки біоплівок для визначення ефективності біоцидів [117]. Відсутні європейські стандарти перевірки ефективності дезінфікуювальних засобів, призначених для застосування в закладах охорони здоров'я, щодо біоплівок.

Результати досліджень свідчать про необхідність переглянути та оптимізувати офіційні нормативи щодо доцільного застосування антибіотиків і біоцидів у різних галузях. Необхідно розробити програми нагляду для вивчення проблем резистентності бактерій до антибіотиків та біоцидів.

Аналіз даних літератури виявив, що не існує надійного критерію або стандарту для оцінки здатності біоцидів спричиняти резистентність до антибіотиків. Отже, необхідно розробити інструменти для визначення «мінімальної концентрації, яка чинить селективний вплив» — мінімальної концентрації біоциду, яка запускає виникнення/експресію генів, котрі регулюють механізми резистентності різних видів бактерій до певного класу антибіотиків.

Продукти з біоцидною дією є складними препаратами. До їх складу входять активні інгредієнти, які підсилюють активність кожного з препаратів. Важливо також звернути увагу на зміни європейського законодавства: Постанову № 1451/2007 (від 4 грудня 2007 р.) і Директиву

2008/809/CE від 14 жовтня 2008 р., згідно з якими заборонено застосування деяких активних речовин. Вплив цих рішень на зниження загальної активності препаратів слід ураховувати при оцінці майбутніх ризиків.

З урахуванням суперечливості результатів оцінки *in vivo* впливу біоцидів на виникнення резистентності до антибіотиків слід стимулювати надання інформації щодо обсягів виробництва та застосування біоцидів. Крім того, до програм екологічного моніторингу за шкідливими речовинами слід внести біоциди.

Сучасні наукові дані, зокрема бактеріологічних, біохімічних та генетичних досліджень, свідчать про те, що застосування або неправильне застосування певних активних речовин у складі біоцидних продуктів, які використовують у різних галузях, спричиняє появу резистентних до антибіотиків бактерій як в організмі людини, так і в довкіллі.

Деякі з механізмів резистентності до біоцидів є подібними до таких, які зумовлюють резистентність бактерій до антибіотиків. У певних ситуаціях, наприклад у лікарнях або ветеринарії, де застосовують як біоциди, так і антибіотики, неможливо визначити точну причину виникнення резистентності до антибіотиків. Через брак даних важко визначити кількісні показники впливу біоцидів на селекцію, виживаність та поширення штамів, резистентних до багатьох речовин.

Найкраще вивчено біоциди — триклозан та четвертинні сполуки амонію, ймовірно, забезпечують селективний тиск, який спричиняє наявність МГЕ, в яких містяться специфічні гени, які зумовлюють резистентність до біоцидів та антибіотиків. Брак даних щодо інших сполук біоцидної дії не дає змоги зробити остаточний висновок щодо їх ролі в селекції резистентних клітин або підтримці резистентності бактерій до антибіотиків. З урахуванням існування паралельних регулівних каскадів, які кодують гени резистентності, котрі активуються в умовах стресу ззовні, важливе значення має визначення здатності біоцидів запускати цей процес.

Деякі механізми резистентності є спільними та захищають клітини від впливу як біоцидів, так і антибіотиків (наприклад, ефлюксні насоси, зміна проникності, утворення біоплівки). Селективний тиск за наявності біоцидів може спричинити виникнення цих механізмів резистентності.

Існування горизонтальної передачі генів, зокрема наявність МГЕ, асоціюється з найвищим ризиком підвищення резистентності до антибіотиків. Організація цих МГЕ (наприклад, наявність генів множинної резистентності) та їх поширення

внаслідок селективного тиску становить найвищий ризик. Утворення біоплівок також зумовлює потенційно високий ризик виникнення перехресної резистентності до біоцидів та антибіотиків.

Постійне широке використання антибіотиків та біоцидів у концентраціях, нижчих за летальні, призводить до збереження тривалого селективного тиску, а отже, до підвищення ризику селективного відбору резистентних бактерій. Це відбувається при застосуванні протимікробних препаратів (антибіотиків, біоцидів) у різних галузях, зокрема в медицині, ветеринарії, сільському господарстві, харчовій промисловості, при виготовленні косметичної продукції тощо.

ПЕРСПЕКТИВА ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для точного визначення впливу та поширеності певного застосування біоцидного засобу слід мати дані щодо дози потрапляння, характеристик довкілля (наявність води, рівень забруднення тощо), стабільності або структури дії сполуки, взаємного підсилення або антагонізму з іншими молекулами (наприклад, компонентами препарату). Ці дані необхідні для визначення ризику, зумовленого конкретним біоцидом при застосуванні в різних галузях. Така робота потребує гігантських зусиль і навряд чи є виправданою. Альтернативою є застосування прогностичних моделей та дотримання стандартних протоколів.

Нині відсутні затверджені стандартні протоколи для оцінки резистентності до протимікробних речовин, спричиненої або селективно відібраної внаслідок застосування біоцидів. Такі стандарти слід розробити, вони допоможуть отримати дані, необхідні для створення біоцидних продуктів та їх застосування, а також дані, потрібні регуляторним органам.

Є необхідність створення стандартних протоколів для кількісного визначення резистентності та перехресної резистентності, спричиненої застосуванням біоцидів. Цими протоколами має бути передбачене комбіноване визначення наслідків багаторазової експозиції біоцидів у концентрації, нижчій за летальну (зокрема в залишковій концентрації), а також проведення стандартних тестів для визначення чутливості до антибіотиків за чинними методиками.

Кількісну оцінку можна проводити за новою концепцією «мінімальної селективної концентрації», тобто визначити мінімальну концентрацію, за якої біоцид здатен забезпечити селективний тиск або запускатиме виникнення/експресію генів, котрі регулюють механізми

резистентності видів бактерій до певного класу антибіотиків за певної тривалості експозиції. Дослідження за таким протоколом необхідно проводити паралельно із стандартизованими перевірками ефективності, метою яких є визначення концентрацій, нижчих за летальні, за тривалості експозиції, нижчої за оптимальну.

Необхідно провести додаткові дослідження для визначення механізмів виникнення перехресної резистентності та резистентних до антибіотиків бактерій під впливом біоцидів у різних галузях (наприклад, у закладах охорони здоров'я, ветеринарії, харчовій промисловості, при виготовленні косметичної продукції та інших споживчих товарів).

Слід розробити стандартизовані методики оцінки здатності біоцидів спричиняти селективний тиск, який призводить до виникнення резистентності до антибіотиків.

Необхідно розробити стандартизовані методики контролю за виникненням резистентності та перехресної резистентності з урахуванням даних щодо використання біоцидів, а також програми контролю для моніторингу за рівнем резистентності та перехресної резистентності позлікарняних штамів у всіх галузях застосування біоцидів, особливо в закладах охорони здоров'я, ветеринарії та на підприємствах харчової промисловості.

Провести дослідження впливу експозиції з урахуванням концентрації та умов середовища (наприклад, наявності води, рівня забрудненості, тривалості експозиції, кислотності тощо) на зміни популяції мікроорганізмів, а також на по-

ширення детермінант резистентності (горизонтальний переніс), необхідні для ідентифікації і визначення ризиків виникнення резистентності та перехресної резистентності бактерій унаслідок впливу біоцидів.

ВИСНОВКИ

1. Існують докази, які свідчать про наявність загальних механізмів, котрі забезпечують резистентність бактерій до біоцидів та антибіотиків, а також про здатність бактерій набувати резистентність шляхом отримання мобільних генетичних елементів. Ці елементи несуть незалежні гени, які зумовлюють специфічну резистентність до біоцидів та антибіотиків.

2. Біоциди використовують у численних продуктах для побутового і промислового застосування, у ветеринарії тощо. Деякі компоненти в складі продукту можуть підвищувати його ефективність, а отже, сприяти зниженню розвитку резистентності бактерій.

3. Результати наукових досліджень, проведених у довіллі, свідчать про обмеженість їх здатності ідентифікувати та характеризувати перехресну резистентність у середовищі природного існування бактерій. Автори визнають, що потрібно провести додаткові «польові» дослідження.

4. Антибіотики та біоциди — речовини, які відіграють важливу роль у контролі за бактеріями в багатьох галузях. Вони є важливим ресурсом, використовувати який слід таким чином, щоб антимікробна активність антибіотиків та біоцидів з часом не зменшилася.

Конфлікт інтересів

Конфлікт інтересів відсутній. Дослідження виконано в рамках науково-пошукової теми кафедри мікробіології, епідеміології та інфекційного контролю Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика.

Література

1. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2015. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC, 2015. Available from: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/antimicrobial-resistance-europe-2015.pdf>
2. Boucher H.W., Talbot G.H., Bradley J.S. et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America // Clin. Infect. Dis. — 2009. — Vol. 48 (1). — P. 1—12.
3. ВОЗ публикует список бактерий, для борьбы с которыми срочно требуется создание новых антибиотиков. — Женева: ВОЗ, 2017. [Электронный ресурс]. Название с экрана. Режим доступа: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/ru/>
4. EASAC (European Academies Science Advisory Council). Tackling antibacterial resistance in Europe, 2007. available from URL: <http://www.easac.eu/document.asp?id=68&pageno=1&detail=1&parent=31> (accessed 25 February 2009)
5. EFSA. Community summary reports on trend and sources of zoonoses, zoonotic agents, antimicrobial resistance

- and food borne outbreaks in the European Union 2007. Available from: URL: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1211902269834.htm (accessed 25 February 2009)
6. Jansen W.T., van der Bruggen J.T., Verhoef J., Fluit A.C. Bacterial resistance: a sensitive issue complexity of the challenge and containment strategy in Europe // *Drug Resist Updat.* — 2006. — Vol. 9. — P. 123—133.
 7. Russell A.D. Biocide use and antibiotic resistance: the relevance of laboratory findings to clinical environmental situations // *Lancet Infect. Dis.* — 2003. — N 3. — P. 794—803.
 8. Sheldon A.T. Jr. Antiseptic «resistance»: real or perceived threat? // *Clin. Infect. Dis.* — 2005. — Vol. 40. — P. 1650—1656.
 9. Falagas M.E., Bliziotis I.A. Pandrug-resistant Gram-negative bacteria: the dawn of the post-antibiotic era? // *Int. J. Antimicrob. Agents.* — 2007. — Vol. 29. — P. 630—636.
 10. Chapman J.S. Characterizing bacterial resistance to preservatives and disinfectants // *Int. Biodet. Biodeg.* — 1998. — Vol. 41. — P. 241—245.
 11. Chapman J.S., Diehl M.A., Fearnside K.B. Preservative tolerance and resistance // *Int. J. Cosmet. Sci.* — 1998. — Vol. 20(1). — P. 31—39.
 12. Cloete T.E. Resistance mechanisms of bacteria to antimicrobial compounds // *Int. Biodet. Biodegrad.* — 2003. — Vol. 51. — P. 277—282.
 13. EFSA. Assessment of the possible effect of the four antimicrobial treatment substances on the emergence of antimicrobial resistance. Scientific Opinion of the Panel on Biological Hazards, 2008. Published 2 April 2008. Available at URL. - P. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178697425124.htm
 14. EFSA. Scientific opinion of the panel on biological hazards on a request from the European Food Safety Authority on foodborne antimicrobial resistance as a biological hazard // *The EFSA Journal.* — 2008. — N 765. — P. 1—87.
 15. Depardieu F., Podglajen I., Leclercq R. et al. Modes and modulations of antibiotic resistance gene expression // *Clin. Microbiol. Rev.* — 2007. — Vol. 20. — P. 79—114.
 16. Birnie C.R., Malamud D., Schnaare R.L. Antimicrobial evaluation of N-alkyl betaines and N-alkyl-N,N-dimethylamine oxides with variations in chain length // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 2000. — Vol. 44. — P. 2514—7.
 17. Alakomi H.L., Paananen A., Suihko M.L. et al. Weakening effect of cell permeabilizers on Gram-negative bacteria causing biodeterioration // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2006. — Vol. 72. — P. 4695—4703.
 18. Denyer S.P., Maillard J.-Y. Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-negative bacteria // *J. Appl. Microbiol.* — 2002. — Vol. 92 (Suppl.). — P. 35S—45S.
 19. Maillard J.-Y. Antimicrobial biocides in the health care environment: efficacy, policies, management and perceived problems // *Ther Clin. Risk Manag.* — 2005. — N 1. — P. 307—320.
 20. Rutala W.A. APIC guideline for selection and use of disinfectants. 1994, 1995, and 1996 APIC Guidelines Committee. Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology Inc // *Am. J. Infect. Control.* — 1996. — Vol. 24. — P. 313—342.
 21. Rutala W.A., Weber D.J. Sterilization and disinfection // *Bennett & Brachman's Hospital Infections* / Ed. W. Jarvis. — Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007. — P. 303—317.
 22. Weber D.J., Rutala W.A. Use of germicides in the home and the health care setting: is there a relationship between germicide use and antibiotic resistance? // *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* — 2006. — Vol. 27. — P. 1107—1119.
 23. Allerberger F., Ayliffe G., Bassetti M. et al. Routine surface disinfection in health care facilities: Should we do it? // *Am. J. Infect. Control.* — 2002. — Vol. 30. — P. 318—319.
 24. Boyce J.M. Environmental contamination makes an important contribution to hospital infection // *J. Hosp. Infect.* — 2007. — Vol. 65 (Suppl. 2). — P. 50—54.
 25. Dettenkoffer M., Wenzler S., Amthor S. et al. Does disinfection of environmental surfaces influence nosocomial infection rates? A systematic review // *Am. J. Infect. Control.* — 2004. — Vol. 32. — P. 84—89.
 26. Rutala W.A., Weber D.J. Surface disinfection: should we do it? // *J. Hosp. Infect.* — 2001. — Vol. 48 (Suppl. A). — P. 64—68.
 27. Rutala W.A., Weber D.J. The benefits of surface disinfection // *Am. J. Infect. Control.* — 2004. — Vol. 32. — P. 226—231.
 28. Hota B. Contamination, disinfection and cross-colonization: Are hospital surfaces reservoirs for nosocomial infection? // *Clin. Infect. Dis.* — 2004. — Vol. 39. — P. 1182—1189.
 29. Talon D. The role of the hospital environment in the epidemiology of multi-resistant bacteria // *J. Hosp. Infect.* — 1999. — Vol. 43. — P. 13—17.
 30. Dancer S.J. How do we assess hospital cleaning? A proposal for microbiological standards for surface hygiene in hospitals // *J. Hosp. Infect.* — 2004. — Vol. 56. — P. 10—15.
 31. Griffith C.J., Cooper R.A., Gilmore J. et al. An evaluation of hospital cleaning regimes and standards // *J. Hosp. Infect.* — 2000. — Vol. 45. — P. 19—28.
 32. Mehtar S., Wiid I., Todorov S.D. The antimicrobial activity of copper and copper alloys against nosocomial pathogens and *Mycobacterium tuberculosis* isolated from health care facilities in the Western Cape: An in vitro study // *J. Hosp. Infect.* — 2008. — Vol. 68. — P. 45—51.
 33. Noyce J.O., Michels H., Keevil C.W. Potential use of copper surfaces to reduce survival of epidemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the health care environment // *J. Hosp. Infect.* — 2006. — Vol. 63. — P. 289—297.
 34. Santo C.E., Taudte N., Nies D.H., Grass G. Contribution of copper ion resistance to survival of *Escherichia coli* on metallic copper surfaces // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2008. — Vol. 74. — P. 977—986.
 35. Weaver L., Michels H.T., Keevil C.W. Survival of *Clostridium difficile* on copper and steel: futuristic options for hospital hygiene // *J. Hosp. Infect.* — 2008. — Vol. 68. — P. 145—151.
 36. Airey P., Verran J. Potential use of copper as a hygienic surface; problems associated with cumulative soiling and cleaning // *J. Hosp. Infect.* — 2007. — Vol. 67. — P. 271—277.
 37. Williams G.J., Denyer S.P., Hosein I.K. et al. The development of a new three-step protocol to determine the efficacy of disinfectant wipes on surfaces contaminated with *Staphylococcus aureus* // *J. Hosp. Infect.* — 2008. — Vol. 67. — P. 329—335.

38. Chapman J.S. Disinfectant resistance mechanisms, cross-resistance, and co-resistance // *Int. Biodeter Biodegrad.* — 2003. — Vol. 51. — P. 271—276.
39. Russell A.D. Introduction of biocides into clinical practice and the impact on antibiotic-resistant bacteria // *J. Appl. Microbiol.* — 2002. — Vol. 92 (Suppl.). — P. 121—135.
40. Romao C.M., de Faria Y.N., Pereira L.R., Asensi M.D. Susceptibility of clinical isolates of multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* to a hospital disinfectant and molecular typing // *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz.* — 2005. — Vol. 100. — P. 541—548.
41. Bamber A.I., Neal T.J. An assessment of triclosan susceptibility in methicillin resistant and methicillin sensitive *Staphylococcus aureus* // *J. Hosp. Infect.* — 1999. — Vol. 41. — P. 107—109.
42. Heath R.J., Yu Y.T., Shapiro M.A. et al. Broad spectrum antimicrobial biocides target the FabI component of fatty acid synthesis // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273. — P. 30316—30320.
43. Fraud S., Maillard J.-Y., Russell A.D. Comparison of the mycobactericidal activity of orthophthalaldehyde, glutaraldehyde and other dialdehydes by a quantitative suspension test // *J. Hosp. Infect.* — 2001. — Vol. 48. — P. 214—221.
44. Nomura K., Ogawa M., Miyamoto H. et al. Antibiotic susceptibility of glutaraldehyde tolerant *Mycobacterium chelonae* from bronchoscope washing machine // *Am. J. Infect. Control.* — 2004. — Vol. 32. — P. 185—188.
45. Walsh S.E., Maillard J.-Y., Russell A.D., Hann A.C. Possible mechanisms for the relative efficacies of ortho-phthalaldehyde and glutaraldehyde against glutaraldehyde-resistant *Mycobacterium chelonae* // *J. Appl. Microbiol.* — 2001. — Vol. 91. — P. 80—92.
46. Dukan S., Touati D. Hypochlorous acid stress in *Escherichia coli*: resistance, DNA damage, and comparison with hydrogen peroxide stress // *J. Bacteriol.* — 1996. — Vol. 178. — P. 6145—6150.
47. Smith K., Hunter I.S. Efficacy of common hospital biocides with biofilms of multi-drug resistant clinical isolates // *J. Med. Microbiol.* — 2008. — Vol. 57. — P. 966—973.
48. Tabak M., Scher K., Hartog E. et al. Effect of triclosan on *Salmonella typhimurium* at different growth stages and in biofilms // *FEMS Microbiol. Lett.* — 2007. — Vol. 267. — P. 200—206.
49. Tattawasart U., Maillard J.-Y., Furr J.R., Russell A.D. Development of resistance to chlorhexidine diacetate and cetylpyridinium chloride in *Pseudomonas stutzeri* and changes in antibiotic susceptibility // *J. Hosp. Infect.* — 1999. — Vol. 42. — P. 219—229.
50. Thomas L., Maillard J.-Y., Lambert R.J., Russell A.D. Development of resistance to chlorhexidine diacetate in *Pseudomonas aeruginosa* and the effect of 'residual' concentration // *J. Hosp. Infect.* — 2000. — Vol. 46. — P. 297—303.
51. McMurry L.M., Oethinger M., Levy S.B. Overexpression of marA, soxS, or acrAB produces resistance to triclosan in laboratory and clinical strains of *Escherichia coli* // *FEMS Microbiol. Lett.* — 1998. — Vol. 166. — P. 305—309.
52. McMurry L.M., McDermott P.F., Levy S.B. Genetic evidence that *inhA* of *Mycobacterium smegmatis* is a target for triclosan // *Antimicrob. Agent Chemother.* — 1999. — Vol. 43. — P. 711—713.
53. Walsh S.E., Maillard J.-Y., Russell A.D. et al. Development of bacterial resistance to several biocides and effects on antibiotic susceptibility // *J. Hosp. Infect.* — 2003. — Vol. 55. — P. 98—107.
54. Russell A.D., McDonnell G. Concentration: a major factor in studying biocidal action // *J. Hosp. Infect.* — 2000. — Vol. 44. — P. 1—3.
55. Anderson G.G., O'Toole G.A. Innate and induced resistance mechanisms of bacterial biofilms // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* — 2008. — Vol. 322. — P. 85—105.
56. Lewis K. Multidrug tolerance of biofilms and persister cells // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* — 2008. — Vol. 322. — P. 107—131.
57. Maillard J.-Y. Bacterial resistance to biocides in the health care environment: should it be of genuine concern? // *J. Hosp. Infect.* — 2007. — Vol. 65 (Suppl. 2). — P. 60—72.
58. Tart A.H., Wozniak D.J. Shifting paradigms in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm research // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* — 2008. — Vol. 322. — P. 193—206.
59. Lear J.C., Maillard J.-Y., Dettmar P.W. et al. Chloroxylenol- and triclosan-tolerant bacteria from industrial sources — susceptibility to antibiotics and other biocides // *Int. Biodeter Biodegrad.* — 2006. — Vol. 57. — P. 51—56.
60. Thomas L., Russell A.D., Maillard J.-Y. Antimicrobial activity of chlorhexidine diacetate and benzalkonium chloride against *Pseudomonas aeruginosa* and its response to biocide residues // *J. Appl. Microbiol.* — 2005. — Vol. 98. — P. 533—543.
61. Abdel Malek S.M., Al-Adham I.S., Winder C.L. et al. Antimicrobial susceptibility changes and T-OMP shifts in pythione-passaged planktonic cultures of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 // *J. Appl. Microbiol.* — 2002. — Vol. 92. — P. 729—736.
62. Langsrud S., Sidhu M.S., Heir E., Holck A.L. Bacterial disinfectant resistance — a challenge for the food industry // *Int. Biodeter. Biodegrad.* — 2003. — Vol. 51. — P. 283—290.
63. Gomez Escalada M., Russell A.D. et al. Triclosan-bacteria interactions: single or multiple target sites? // *Lett Appl. Microbiol.* — 2005. — Vol. 41. — P. 476—481.
64. Reuter G. The effectiveness of cleaning and disinfection during meat production and processing — Influence factors and use recommendations // *Fleischwirtschaft.* — 1996. — Bd. 74. — S. 808—813.
65. Poole K. Mechanisms of bacterial biocide and antibiotic resistance // *J. Appl. Microbiol.* — 2002. — Vol. 92 (Suppl.). — P. 55—64.
66. Russell A.D., Furr J.R., Maillard J.-Y. Microbial susceptibility and resistance to biocides: an understanding // *ASM News.* — 1997. — Vol. 63. — P. 481—487.
67. Champlin F.R., Ellison M.L., Bullard J.W., Conrad R.S. Effect of outer membrane permeabilisation on intrinsic resistance to low triclosan levels in *Pseudomonas aeruginosa* // *Int. J. Antimicrob. Agents.* — 2005. — Vol. 26. — P. 159—164.
68. Lambert P.A. Cellular impermeability and uptake of biocides and antibiotics in Gram-positive bacteria and mycobacteria // *J. Appl. Microbiol.* — 2002. — Vol. 92 (Suppl.). — P. S46—S55.
69. Hawkey P.M. Mycobactericidal agents // *Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization* / Eds. A.P. Fraise, P.A. Lambert, J.-Y. Maillard. — 4th ed. — Oxford: Blackwell Scientific Publication, 2004. — P. 191—204.
70. Ayres H.M., Payne D.N., Furr J.R., Russell A.D. Effect of permeabilizing agents on antibacterial activity against

- a simple *Pseudomonas aeruginosa* biofilm // Lett Appl. Microbiol. — 1998. — Vol. 27. — P. 79—82.
71. Fraud S., Hann A.C., Maillard J.-Y., Russell A.D. Effects of ortho-phthalaldehyde, glutaraldehyde and chlorhexidine diacetate on *Mycobacterium chelonae* and *M. abscessus* strains with modified permeability // J. Antimicrob. Chemother. — 2003. — Vol. 51. — P. 575—584.
 72. McDonnell G., Russell A.D. Antiseptics and disinfectants: activity, action and resistance // Clin. Microbiol. Rev. — 1999. — Vol. 12. — P. 147—179.
 73. Stickler D.J. Intrinsic resistance of Gram-negative bacteria // Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization / Eds. A.P. Fraiese, P.A. Lambert, J.-Y. Maillard. — 4th ed. — Oxford: Blackwell Scientific Publication, 2004. — P. 154—169.
 74. Braoudaki M., Hilton A.C. Mechanisms of resistance in *Salmonella enterica* adapted to erythromycin, benzalkonium chloride and triclosan // Int. J. Antimicrob. Agents. — 2005. — Vol. 25. — P. 31—37.
 75. Tattawasart U., Hann A.C., Maillard J.-Y. et al. Cytological changes in chlorhexidine-resistant isolates of *Pseudomonas stutzeri* // J. Antimicrob. Chemother. — 2000. — Vol. 45. — P. 145—152.
 76. Tattawasart U., Hann A.C., Maillard J.-Y. et al. Outer membrane changes in *Pseudomonas stutzeri* strains resistant to chlorhexidine diacetate and cetylpyridinium chloride // Int. J. Antimicrob. Agents. — 2000. — Vol. 16. — P. 233—238.
 77. Guerin-Mechin L., Dubois-Brissonnet F., Heyd B., Leveau J.Y. Specific variations of fatty acid composition of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 induced by quaternary ammonium compounds and relation with resistance to bactericidal activity // J. Appl. Microbiol. — 1999. — Vol. 87. — P. 735—742.
 78. Guerin-Mechin L., Dubois-Brissonnet F., Heyd B., Leveau J.Y. Quaternary ammonium compounds stresses induce specific variations in fatty acid composition of *Pseudomonas aeruginosa* // Inter J. Food Microbiol. — 2000. — Vol. 55. — P. 157—159.
 79. Mechin L., Dubois-Brissonnet F., Heyd B., Leveau J.Y. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 to didecyltrimethylammonium bromide induces changes in membrane fatty acid composition and in resistance of cells // J. Appl. Microbiol. — 1999. — Vol. 86. — P. 859—866.
 80. Boeris P.S., Domenech C.E., Lucchesi G.I. Modification of phospholipid composition in *Pseudomonas putida* A ATCC 12633 induced by contact with tetradecyltrimethylammonium // J. Appl. Microbiol. — 2007. — Vol. 103. — P. 1048—1054.
 81. Bruinsma G.M., Rustema-Abbing M., van der Mei H.C. et al. Resistance to a polyquaternium-1 lens care solution and isoelectric points of *Pseudomonas aeruginosa* strains // J. Antimicrob. Chemother. — 2006. — Vol. 57. — P. 764—766.
 82. Borges-Walmsley M.I., Walmsley A.R. The structure and function of drug pumps // Trends Microbiol. — 2001. — N 9. — P. 71—79.
 83. Levy S.B. Active efflux, a common mechanism for biocide and antibiotic resistance // J. Appl. Microbiol. — 2002. — Vol. 92 (Suppl.). — P. 65—71.
 84. McKeegan K.S., Borges-Walmsley M.I., Walmsley A.R. The structure and function of drug pumps: an update // Trends Microbiol. — 2003. — Vol. 11. — P. 21—29.
 85. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited // Microbiol. Mol. Biol. Rev. — 2003. — Vol. 67. — P. 593—656.
 86. Piddock L.J. Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pump in bacteria // Clin. Microbiol. Rev. — 2006. — Vol. 19. — P. 382—402.
 87. Poole K. Multidrug resistance in Gram-negative bacteria // Curr. Opin. Microbiol. — 2001. — Vol. 4. — P. 500—508.
 88. Putman M., van Veen H.W., Degener J.E., Konings W.N. Antibiotic resistance: era of the multidrug pump // Mol. Microbiol. — 2000. — Vol. 36. — P. 772—773.
 89. Poole K. Outer membranes and efflux: the path to multidrug resistance in Gram-negative bacteria // Curr. Pharm. Biotechnol. — 2002. — Vol. 3. — P. 77—98.
 90. Poole K. Acquired resistance // Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization / Eds. A.P. Fraiese, P.A. Lambert, J.-Y. Maillard. — 4th ed. — Oxford: Blackwell Scientific Publication, 2004. — P. 170—183.
 91. Davin-Regli A., Chollet R., Bredin J. et al. *Enterobacter gergoviae* and the prevalence of efflux in parabens resistance // J. Antimicrob. Chemother. — 2006. — Vol. 57. — P. 757—760.
 92. Heir E., Sundheim G., Holck A.L. The qacG gene on plasmid pST94 confers resistance to quaternary ammonium compounds in staphylococci isolated from the food industry // J. Appl. Microbiol. — 1999. — Vol. 86. — P. 378—388.
 93. Randall L.P., Cooles S.W., Coldham N.G. et al. Commonly used farm disinfectants can select for mutant *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with decreased susceptibility to biocides and antibiotics without compromising virulence // J. Antimicrob. Chemother. — 2007. — Vol. 60. — P. 1273—1280.
 94. Wang J.T., Sheng W.H., Wang J.L. et al. Longitudinal analysis of chlorhexidine susceptibilities of nosocomial methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates at a teaching hospital in Taiwan // J. Antimicrob. Chemother. — 2008. — Vol. 62. — P. 514—517.
 95. Heir E., Sundheim G., Holck A.L. The *Staphylococcus* qacH gene product: a new member of the SMR family encoding multidrug resistance // FEMS Microbiol. Lett. — 1998. — Vol. 163. — P. 49—56.
 96. Chuanchuen R., Narasaki C.T., Schweizer H.P. The MexJK efflux pump of *Pseudomonas aeruginosa* requires OprM for antibiotic efflux but not for effect of triclosan // J. Bacteriol. — 2002. — Vol. 184. — P. 5036—5044.
 97. Morita Y., Murata T., Mima T. et al. Induction of mexCD-oprJ operon for a multidrug efflux pump by disinfectants in wild-type *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 // J. Antimicrob. Chemother. — 2003. — Vol. 51. — P. 991—994.
 98. Schweizer H.P. Intrinsic resistance to inhibitors of fatty acid biosynthesis in *Pseudomonas aeruginosa* is due to efflux: application of a novel technique for generation of unmarked chromosomal mutations for the study of efflux systems // Antimicrob. Agents Chemother. — 1998. — Vol. 42. — P. 394—398.
 99. McMurry L.M., Oethinger M., Levy S.B. Triclosan targets lipid synthesis // Nature (London). — 1998. — Vol. 394. — P. 531—532.
 100. Moken M.C., McMurry L.M., Levy S.B. Selection of multiple-antibiotic-resistant (Mar) mutants of *Escherichia coli* by using the disinfectant pine oil: Roles of the mar and acrAB loci // Antimicrob. Agents Chemother. — 1997. — Vol. 41. — P. 2770—2772.
 101. Nishino K., Yamagushi A. Analysis of a complete library

- of putative drug transporter genes in *Escherichia coli* // J. Bacteriol. — 2001. — Vol. 183. — P. 5803—5812.
102. Valkova N., Lepine F., Valeanu L. et al. Hydrolysis of 4-hydroxybenzoic acid esters (parabens) and their aerobic transformation into phenol by the resistant *Enterobacter cloacae* strain EM // Appl. Environ. Microbiol. — 2001. — Vol. 67. — P. 2404—2409.
 103. Kummerle N., Feucht H.H., Kaulfers P.M. Plasmid-mediated formaldehyde resistance in *Escherichia coli*: characterization of resistance gene // Antimicrob. Agents Chemother. — 1996. — Vol. 40. — P. 2276—2279.
 104. Demple B. Redox signaling and gene control in the *Escherichia coli* soxRS oxidative stress regulon — A review // Gene. — 1996. — Vol. 179. — P. 53—57.
 105. Heath R.J., Rubin J.R., Holland D.R. et al. Mechanism of triclosan inhibition of bacterial fatty acid synthesis // J. Biol. Chem. — 1999. — Vol. 274. — P. 11110—11114.
 106. Levy C.W., Roujeinikova A., Sedclnikova S. et al. Molecular basis of triclosan activity // Nature. — 1999. — Vol. 398. — P. 384—385.
 107. Roujeinikova A., Levy C.W., Rowsell S. et al. Crystallographic analysis of triclosan bound to enoyl reductase // J. Mol. Biol. — 1999. — Vol. 294. — P. 527—535.
 108. Stewart M.J., Parikh S., Xiao G. et al. Structural basis and mechanisms of enoyl reductase inhibition by triclosan // J. Mol. Biol. — 1999. — Vol. 290. — P. 859—865.
 109. Heath R.J., Li J., Roland G.E., Rock C.O. Inhibition of the *Staphylococcus aureus* NADPH-dependent Enoyl-acyl carrier protein reductase by triclosan and hexachlorophene // J. Biol. Biochem. — 2000. — Vol. 275. — P. 4654—4659.
 110. Parikh S.L., Xiao G., Tonge P.J. Inhibition of InhA, enoyl reductase from *Mycobacterium tuberculosis*, by triclosan and isoniazid // Biochemistry. — 2000. — Vol. 39. — P. 7645—7650.
 111. Gomez Escalada M., Harwood J.L., Ochs D. Triclosan inhibition of fatty acid synthesis and its effect on growth of *E. coli* and *P. aeruginosa* // J. Antimicrob. Chemother. — 2005. — Vol. 55. — P. 879—882.
 112. Russell A.D. Antibiotic and biocide resistance in bacteria: comments and conclusion // J. Appl. Microbiol. — 2002. — Vol. 92 (Suppl.). — P. 171—173.
 113. White D.G., McDermott P.F. Biocides, drug resistance and microbial evolution // Curr. Opin Microbiol. — 2001. — Vol. 4. — P. 313—317.
 114. Bjorland J., Sunde M., Waage S. Plasmid-borne smr gene causes resistance to quaternary ammonium compounds in bovine *Staphylococcus aureus* // J. Clin. Microbiol. — 2001. — Vol. 39. — P. 3999—4004.
 115. Kucken D., Feucht H.H., Kaulfers P.M. Association of qacE and qacEΔ1 with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria // FEMS Microbiol. Lett. — 2000. — Vol. 183. — P. 95—98.
 116. Pearce H., Messenger S., Maillard J-Y. Effect of biocides commonly used in the hospital environment on the transfer of antibiotic-resistance genes in *Staphylococcus aureus* // J. Hosp. Infect. — 1999. — Vol. 43. — P. 101—108.
 117. Cookson B. Clinical significance of emergence of bacterial antimicrobial resistance in the hospital environment // J. Appl. Microbiol. — 2005. — Vol. 99. — P. 989—996.
 118. Gilbert P., McBain A.J., Rickard A.H. Formation of microbial biofilm in hygienic situations: a problem of control // Int. Biodeter Biodegrad. — 2003. — Vol. 51. — P. 245—248.
 119. Maira-Litran T., Allison D.G., Gilbert P. An evaluation of the potential of the multiple antibiotic resistance operon (mar) and the multidrug efflux pump acrAB to moderate resistance towards ciprofloxacin in *Escherichia coli* biofilms // J. Antimicrob. Chemother. — 2000. — Vol. 45. — P. 789—795.
 120. Ma D., Cook D.N., Hearst J.E., Nikaido H. Efflux pumps and drug resistance in Gram-negative bacteria // Trends Microbiol. — 1994. — N 2. — P. 489—493.
 121. Webber M.A., Randall L.P., Cooles S. et al. Triclosan resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium // J. Antimicrob. Chemother. — 2008. — Vol. 62. — P. 83—91.
 122. Allen M.J., White G.F., Morby A.P. The response of *Escherichia coli* to exposure to the biocide polyhexamethylene biguanide // Microbiology. — 2006. — Vol. 152. — P. 989—1000.
 123. Davies D.G., Parsek M.R., Pearson J.P. et al. The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm // Science. — 1998. — Vol. 280. — P. 295—298.
 124. Hassett D.J., Ma J.F., Elkins J.G. et al. Quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* controls expression of catalase and superoxide dismutase genes and mediates biofilm susceptibility to hydrogen peroxide // Mol. Microbiol. — 1999. — Vol. 34. — P. 1082—1093.
 125. Shih P.C., Huang C.T. Effects of quorum-sensing deficiency on *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and antibiotic resistance // J. Antimicrob. Chemother. — 2002. — Vol. 49. — P. 309—314.
 126. MacLehose H.G., Gilbert P., Allison D.G. Biofilms, homoserine lactones and biocide susceptibility // J. Antimicrob. Chemother. — 2004. — Vol. 53. — P. 180—184.
 127. Klasen H.J. A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver // Burns. — 2000. — Vol. 26. — P. 131—138.
 128. Percival S.L., Bowler P.G., Russell D. Vacetrial resistance to silver in wound care // J. Hosp. Infect. — 2005. — Vol. 60. — P. 1—7.
 129. Stickler D.J., Jones G.L. Reduced Susceptibility of *Proteus mirabilis* to triclosan // Antimicrob. Agents Chemother. — 2008. — Vol. 52. — P. 991—994.
 130. Randall L.P., Cooles S.W., Piddock L.J. et al. Effect of triclosan or a phenolic farm disinfectant on the selection of antibiotic-resistant *Salmonella enterica* // J. Antimicrob. Chemother. — 2004. — Vol. 54. — P. 621—627.
 131. MacBain A.J., Bartolo R.G., Catrenich C.E. et al. Exposure of sink drain microcosms to triclosan: population dynamics and antimicrobial susceptibility // Appl. Environ. Microbiol. — 2003. — Vol. 69. — P. 5433—5442.
 132. Lear J.C., Maillard J.-Y., Dettmar P.W. et al. Chloroxylene- and triclosan- tolerant bacteria from industrial sources // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. — 2002. — Vol. 29. — P. 238—242.
 133. Baquero F., Martinez J.L., Canton R. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments // Curr. Opin. Biotechnol. — 2008. — Vol. 19. — P. 260—265.
 134. Kummerer K. Resistance in the environment // J. Antimicrob. Chemother. — 2004. — Vol. 54. — P. 311—320.
 135. Dobrindt U., Hochhut B., Hentschel U. et al. Genomic islands in pathogenic and environmental micro-

- organisms // Nat. Rev. Microbiol. — 2004. — N 2. — P. 414—424.
136. EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the Scientific Panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food (AFC) related to treatment of poultry carcasses with chlorine dioxide, acidified sodium chlorite, trisodium phosphate and peroxyacids, Published 16 January 2006, Adopted 6 December 2005. Available at URL: http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1178620765475.htm
 137. Bao L., Peng R., Ren X. et al. Analysis of some common pathogens and their drug resistance to antibiotics // Pak. J. Med. Sci. — 2013. — Vol. 29 (1). — P. 135—139.
 138. Lee B., Kang S.Y., Kang H.M. et al. Outcome of antimicrobial therapy of pediatric urinary tract infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* // Infect. Chemother. — 2013. — Vol. 45 (4). — P. 415—421.
 139. Pfaller M.A., Flamm R.K., Sader H.S. et al. Ceftaroline activity against bacterial organisms isolated from acute bacterial skin and skin structure infections in United States medical centers (2009—2011) // Diagn. Microbiol. Infect. Dis. — 2014. — Vol. 17. — P. S0732—8893.
 140. Nilsen E., Haldorsen B.C., Sundsfjord A. et al. Large IncHI2-plasmids encode extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in *Enterobacter spp.* bloodstream isolates, and support ESBL-transfer to *Escherichia coli* // Clin. Microbiol. Infect. — 2013. — Vol. 19 (11). — P. E516—518.
 141. Cochard H., Aubier B., Quentin R. et al. Extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in french nursing homes: An association between high carriage rate among residents, environmental contamination, poor conformity with good hygiene practice, and putative resident-to-resident transmission // Infect. Control Hosp. Epidemiol. — 2014. — Vol. 35 (4). — P. 384—389.
 142. Thibaut S., Caillon J., Marquet A. et al. Epidemiology of third-generation cephalosporin-resistant community-acquired *Enterobacteria* isolated from elderly patients // Med. Mal. Infect. — 2014. — Vol. 44 (2). — P. 57—62.
 143. Veldman K., Kant A., Dierikx C. et al. *Enterobacteriaceae* resistant to third-generation cephalosporins and quinolones in fresh culinary herbs imported from Southeast Asia // Int. J. Food Microbiol. — 2014. — Vol. 177. — P. 72—77.
 144. Grover N., Sahni A.K., Bhattacharya S. Therapeutic challenges of ESBLs and AmpC beta-lactamase producers in a tertiary care center // Armed Forces Med. J. India. — 2012. — Vol. 69 (1). — P. 4—10.
 145. Nakamura T., Komatsu M., Yamasaki K. et al. Susceptibility of various oral antibacterial agents against extended spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* // J. Infect. Chemother. — 2014. — Vol. 20 (1). — P. 48—51.
 146. Liu P.Y., Shi Z.Y., Tung K.C. et al. Antimicrobial resistance to cefotaxime and ertapenem in *Enterobacteriaceae*: The effects of altering clinical breakpoints // J. Infect. Dev. Ctries. — 2014. — Vol. 8 (3). — P. 289—296.
 147. Davin-Regli A., Bolla J.M., James C.J. et al. Membrane permeability and regulation of drug «influx and efflux» in enterobacterial pathogens // Current Drug Targets. — 2008. — N 9. — P. 750—759.
 148. Aiello A.E., Marshall B., Levy S.B. et al. Antibacterial cleaning products and drug resistance // Emerg. Infect. Dis. — 2005. — Vol. 11. — P. 1565—1570.
 149. Aiello A.E., Larson E.L., Levy S.B. Consumer antibacterial soaps: effective or just risky? // Clin. Infect. Dis. — 2007. — Vol. 45 (Suppl. 2). — P. 137—147.
 150. Braoudaki M., Hilton A.C. Low level of cross-resistance between triclosan and antibiotics in *Escherichia coli* K-12 and *E. coli* O5 compared to *E. coli* O157 // FEMS Microbiol. Lett. — 2004. — Vol. 235. — P. 305—309.
 151. McBain A.J., Rickard A.H., Gilbert P. Possible implications of biocide accumulation in the environment on the prevalence of bacterial antibiotic resistance // J. Indust. Microbiol. Biotechnol. — 2002. — Vol. 9. — P. 326—330.
 152. Pumbwe L., Skilbeck C.A., Wexler H.M. Induction of multiple antibiotic resistance in *Bacteroides fragilis* by benzene and benzene-derived active compounds of commonly used analgesics, antiseptics and cleaning agents // J. Antimicrob. Chemother. — 2007. — Vol. 60. — P. 1288—1297.
 153. Russell A.D. Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon // J. Hosp. Infect. — 2004. — Vol. 57. — P. 97—104.
 154. Carson R.T., Larson E., Levy S.B. et al. Use of antibacterial consumer products containing quaternary ammonium compounds and drug resistance in the community // J. Antimicrob. Chemother. — 2008. — Vol. 62. — P. 1160—1162.
 155. Poole K. Efflux pumps as antimicrobial resistance mechanisms // Ann. Med. — 2007. — Vol. 39. — P. 162—176.
 156. Fraise A.P. Biocide abuse and antimicrobial resistance — a cause for concern? // J. Antimicrob. Chemother. — 2002. — Vol. 49. — P. 11—12.
 157. Gilbert P., Moore L.E. Cationic antiseptics: diversity of action under a common epithet // J. Appl. Microbiol. — 2005. — Vol. 99. — P. 703—715.
 158. Lambert R.J. Evaluation of antimicrobial efficacy // Principles and practice of disinfection, preservation and sterilization / Eds. A.P. Fraise, P.A. Lambert, J.-Y. Maillard. — 4th ed. — Oxford: Blackwell Science, 2004. — P. 345—360.
 159. Maillard J.-Y. Bacterial target sites for biocidal action // J. Appl. Microbiol. — 2002. — Vol. 92 (Suppl.). — P. 16S—27S.
 160. Thorrold C.A., Letsoalo M.E., Duse A.G. et al. Efflux pump activity in fluoroquinolone and tetracycline resistant *Salmonella* and *E coli* implicated in reduced susceptibility to household antimicrobial cleaning agents // Int. J. Food Microbiol. — 2007. — Vol. 113. — P. 315—320.
 161. Bisset L., Cossart Y.E., Selby W. et al. A prospective study of the efficacy of routine decontamination for gastrointestinal endoscopes and the risk factors for failure // Am. J. Infect. Control. — 2006. — Vol. 34. — P. 274—280.
 162. Gilbert P., McBain A.J. Potential Impact of increased use of biocides in consumer products on prevalence of antibiotic resistance // Clin. Microbiol. Rev. — 2003. — Vol. 16. — P. 189—208.
 163. Das J.R., Bhakoo M., Jones M.V. et al. Changes in the biocide susceptibility of *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli* cells associated with rapid attachment to plastic surfaces // J. Appl. Microbiol. — 1998. — Vol. 84. — P. 852—858.
 164. Pan Y., Breidt F., Kathariou S. Resistance of *Listeria monocytogenes* biofilms to sanitizing agents in a simulated food processing environment // Appl. Environ. Microbiol. — 2006. — Vol. 72. — P. 7711—7717.

165. Huang C.T., Yu F.P., McFeters G.A. et al. Nonuniform spatial patterns of respiratory activity within biofilms during disinfection // *Appl. Environ. Microbiol.* — 1995. — Vol. 61. — P. 2252—2256.
166. Jurgens D.J., Sattar S.A., Mah T.F. Chloraminated drinking water does not generate bacterial resistance to antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms // *Lett. Appl. Microbiol.* — 2008. — Vol. 46. — P. 562—567.
167. Karatzas K.A., Webber M.A., Jorgensen F. et al. Prolonged treatment of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium with commercial disinfectants selects for multiple antibiotic resistance, increased efflux and reduced invasiveness // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2007. — Vol. 60. — P. 947—955.
168. Sanchez P., Linares J.F., Moreno E. et al. The biocide triclosan selects *Stenotrophomonas maltophilia* mutants that overproduce the SmeDEF multidrug efflux pump // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 2005. — Vol. 49. — P. 781—782.
169. Fraud S., Campigotto A.J., Chen Z. et al. MexCD-OprJ multidrug efflux system of *Pseudomonas aeruginosa*: involvement in chlorhexidine resistance and induction by membrane-damaging agents dependent upon the AlgU stress response sigma factor // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 2008. — Vol. 52. — P. 4478—4482.
170. Huet A.A., Raygada J.L., Mendiratta K. et al. Multidrug efflux pump overexpression in *Staphylococcus aureus* after single and multiple *in vitro* exposures to biocides and dyes // *Microbiology.* — 2008. — Vol. 154. — P. 3144—3153.
171. Braoudaki M., Hilton A.C. Adaptive resistance to biocides in *Salmonella enterica* and *Escherichia coli* O157 and cross-resistance to antimicrobial agents // *J. Clin. Microbiol.* — 2004. — Vol. 42. — P. 73—78.
172. Codling C.E., Jones B.V., Mahenthalingam E. et al. Identification of genes involved in the susceptibility of *Serratia marcescens* to polyquaternium-1 // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2004. — Vol. 54. — P. 370—375.
173. Pomposiello P.J., Bennik M.H., Demple B. Genome-wide transcriptional profiling of the *Escherichia coli* responses to superoxide stress and sodium salicylate // *J. Bacteriol.* — 2001. — Vol. 183. — P. 3890—3902.
174. Akimitsu N., Hamamoto H., Inoue R. et al. Increase in resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to β -lactams caused by mutations conferring resistance to benzalkonium chloride, a disinfectant widely used in hospitals // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 1999. — Vol. 43. — P. 3042—3043.
175. Chuanchuen R., Beinlich K., Hoang T.T. et al. Cross-resistance between triclosan and antibiotics in *Pseudomonas aeruginosa* is mediated by multidrug efflux pumps: exposure of a susceptible mutant strain to triclosan selects nxfB mutants overexpressing MexCD-OprJ // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 2001. — Vol. 45. — P. 428—432.
176. Russell A.D., Tattawasart U., Maillard J.-Y. et al. Possible link between bacterial resistance and use of antibiotics and biocides // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 1998. — Vol. 42. — P. 2151.
177. Koljalg S., Naaber P., Mikelsaar M. Antibiotic resistance as an indicator of bacterial chlorhexidine susceptibility // *J. Hosp. Infect.* — 2002. — Vol. 51. — P. 106—113.
178. Noguchi N., Tamura M., Narui K. et al. Frequency and genetic characterization of multidrug-resistant mutants of *Staphylococcus aureus* after selection with individual antiseptics and fluoroquinolones // *Biol. Pharm. Bull.* — 2002. — Vol. 25. — P. 1129—1132.
179. Zgurskaya H.I., Nikaido H. Multidrug resistance mechanisms: drug efflux across two membranes // *Mol. Microbiol.* — 2000. — Vol. 37. — P. 219—225.
180. Wang H., Dzink-Fox J.L., Chen M. et al. Genetic characterization of high-level fluoroquinolone resistant clinical *Escherichia coli* strains from China: role of *acrR* mutations // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 2001. — Vol. 45. — P. 1515—1521.
181. Mitchell B.A., Brown M.H., Skurray R.A. QacA multidrug efflux pump from *Staphylococcus aureus*: comparative analysis of resistance to diamidines, biguanides and guanylhydrazones // *Antimicrob. Agents. Chemother.* — 1998. — Vol. 42. — P. 475—477.
182. Paulsen I.T., Skurray R.A., Tam R. et al. The SMR family: a novel family of multidrug efflux proteins involved with the efflux of lipophilic drugs // *Mol. Microbiol.* — 1996. — Vol. 19. — P. 1167—1175.
183. Aiello A.E., Larson E. Antibacterial cleaning and hygiene products as an emerging risk factor for antibiotic resistance in the community // *Lancet. Infect. Dis.* — 2003. — N 3. — P. 501—506.
184. Kunonga N.I., Sobieski R.J., Crupper S.S. Prevalence of the multiple antibiotic resistance operon (*marRAB*) in the genus *Salmonella* // *FEMS Microbiol. Lett.* — 2000. — Vol. 187. — P. 155—160.
185. Levy S.B. Antibiotic and antiseptic resistance: impact on public health // *Pediatr. Infect. Dis J.* — 2000. — Vol. 19 (Suppl.). — P. 120—122.
186. Potenski C.J., Gandhi M., Matthews K.R. Exposure of *Salmonella enteritidis* to chlorine or food preservatives increases susceptibility to antibiotics // *FEMS Microbiol. Lett.* — 2003. — Vol. 220. — P. 181—186.
187. Lear J.C., Maillard J.-Y., Goddard P.A. et al. Isolation and study of chloroxylenoland triclosan-resistant strains of bacteria // *J. Pharm. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 52 (Suppl.). — P. 126.
188. Ledder R.G., Gilbert P., Willis C. et al. Effects of chronic triclosan exposure upon the antimicrobial susceptibility of 40 ex-situ environmental and human isolates // *J. Appl. Microbiol.* — 2006. — Vol. 100. — P. 1132—1140.
189. McBain A.J., Ledder R.G., Sreenivasan P. et al. Selection for high-level resistance by chronic triclosan exposure is not universal // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2004. — Vol. 53. — P. 772—777.
190. Beveridge T.J., Hughes M.N., Lee H. et al. Metal-microbe interactions: contemporary approaches // *Adv. Microb. Physiol.* — 1997. — Vol. 38. — P. 177—243.
191. McBain A.J., Ledder R.G., Moore L.E. et al. Effects of quaternary-ammonium based formulations on bacterial community dynamics and antimicrobial susceptibility // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2004. — Vol. 70. — P. 3449—3456.
192. Moore L.E., Ledder R.G., Gilbert P. et al. *In vitro* study of the effect of cationic biocides on bacterial population dynamics and susceptibility // *Appl. Environ. Microbiol.* — 2008. — Vol. 74. — P. 4825—4834.
193. Kummerer K., Al-Ahmad A., Henninger A. Use of chemotaxonomy to study the influence of benzalkonium chloride on bacterial populations in biodegradation testing // *Acta Hydrochim. Hydrobiol.* — 2002. — Vol. 30. — P. 171—178.
194. Jones G.L., Muller C.T., O'Reilly M., Stickler D.J. Effect of triclosan on the development of bacterial biofilms by urinary tract pathogens on urinary catheters // *J. Antimicrob. Chemother.* — 2006. — Vol. 57. — P. 266—272.
195. Gillespie T.G., Hogg L., Budge E. et al. *Mycobacterium*

- chelonae* isolated from rinse water within and endoscope washer—disinfectant // J. Hosp. Infect. — 2000. — Vol. 45. — P. 332—334.
196. Kressel A., Kidd F. Pseudo-outbreak of *Mycobacterium chelonae* and *Methylobacterium mesophilicum* caused by contamination of an automated endoscopy washer // Infect. Control. Hosp. Epidemiol. — 2001. — Vol. 22. — P. 414—418.
 197. Schelenz S., French G. An outbreak of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection associated with contamination of bronchoscopes and an endoscope washer-disinfectant // J. Hosp. Infect. — 2000. — Vol. 46. — P. 23—30.
 198. Takigawa K., Fujita J., Negayama K. et al. Eradication of contaminating *Mycobacterium chelonae* from bronchofibrescopes and an automated bronchoscope disinfection machine // Respir. Med. — 1995. — Vol. 89. — P. 423—427.
 199. Martin D.J., Denyer S.P., McDonnell G. et al. Resistance and cross-resistance to oxidising agents of bacterial isolates from endoscope washer disinfectants // J. Hosp. Infect. — 2008. — Vol. 69. — P. 377—383.
 200. Pajkos A., Vickery K., Cossart Y. Is biofilm accumulation on endoscope tubing a contributor to the failure of cleaning and decontamination? // J. Hosp. Infect. — 2004. — Vol. 58. — P. 224—229.
 201. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms // Clin. Microbiol. Rev. — 2002. — Vol. 15. — P. 167—193.
 202. Dunne W.M. Jr. Bacterial adhesion: seen any good biofilms lately? // Clin. Microbiol. Rev. — 2002. — Vol. 15. — P. 155—166.
 203. Shackelford J.C.N., Hanlon G.W., Maillard J-Y. Use of a new alginate film test to study the bactericidal efficacy of the high-level disinfectant ortho-phthalaldehyde // J. Antimicrob. Chemother. — 2006. — Vol. 57. — P. 335—338.
 204. Anderson R.L., Carr J.H., Bond W.W. et al. Susceptibility of vancomycin-resistant Enterococci to environmental disinfectants // Infect. Control. Hosp. Epidemiol. — 1997. — Vol. 18. — P. 195—199.
 205. Rutala W.A., Stiegel M.M., Sarubbi F.A. et al. Susceptibility of antibiotic-susceptible and antibiotic-resistant hospital bacteria to disinfectants // Infect. Control Hosp. Epidemiol. — 1997. — Vol. 18. — P. 417—421.
 206. Sakagami Y., Kajimura K. Bactericidal activities of disinfectants against vancomycin-resistant enterococci // J. Hosp. Infect. — 2002. — Vol. 50. — P. 140—144.
 207. Byers K.E., Durbin L.J., Simonton B.M. et al. Disinfection of hospital rooms contaminated with vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* // Infect. Control. Hosp. Epidemiol. — 1998. — Vol. 19. — P. 261—264.
 208. Rutala W.A., Weber D.J., Gergen M.F. Studies on the disinfection of VRE-contaminated surfaces // Infect. Control Hosp. Epidemiol. — 2000. — Vol. 21. — P. 548.
 209. Gilbert P., McBain A. Live and let die // Microbiol. Today. — 2004. — Vol. 31. — P. 61—64.
 210. Singer H., Muller S., Tixier C. et al. Triclosan: Occurrence and fate of widely used biocide in the aquatic environment: field measurements in wastewater treatment plants, surface waters, and lake sediments // Environ. Sci Technol. — 2002. — Vol. 36. — P. 4998—5004.
 211. Lindstrom A., Buerge I.J., Poiger T. et al. Occurrence and environmental behavior of the bactericide triclosan and its methyl derivative in surface waters and in wastewater // Environ. Sci Technol. — 2002. — Vol. 36. — P. 2322—2329.
 212. McAvoy D.C., Schatovitz B., Jacob M. et al. Measurement of triclosan in wastewater treatment systems // Environ. Toxicol. Chem. — 2002. — Vol. 21. — P. 1323—1329.
 213. Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T. et al. Pharmaceuticals, hormones and other organic wastewater contaminants in U.S. streams, 1999—2000: a national reconnaissance // Environ. Sci Technol. — 2002. — Vol. 36. — P. 1202—1211.
 214. Okumura T., Nishikawa Y. Gas chromatography—mass spectrometry determination of triclosans in water, sediment and fish samples via methylation with diazomethane // Analytica Chimica Acta. — 1996. — Vol. 325. — P. 175—184.
 215. Steffen D., Lach G. «Oberirdische Gewässer», Niedersächsisches Landesamt für Ökologie, Hildesheim, Oktober 2000.
 216. Ventullo R.M., Larson R.J. Adaptation of aquatic microbial communities to quaternary ammonium compounds // Appl. Environ. Microbiol. — 1986. — Vol. 51. — P. 356—361.
 217. Nishihara T., Okamoto T., Nishiyama N. Biodegradation of didecyl-dimethyl-ammonium chloride by *Pseudomonas fluorescens* TN4 isolated from activated sludge // J. Appl. Microbiol. — 2000. — Vol. 88. — P. 641—647.
 218. Martinez-Carballo E., Gonzalez-Barreiro C., Sitka A. et al. Determination of selected quaternary ammonium compounds by liquid chromatography with mass spectrometry. Part II. Application to sediment and sludge samples in Austria // Environ. Pollution. — 2007. — Vol. 146. — P. 543—547.
 219. Tkachenko O., Shepard J., Aris V.M. et al. A triclosan-ciprofloxacin crossresistant mutant strain of *Staphylococcus aureus* displays an alteration in the expression of several cell membrane structural and functional genes // Res. Microbiol. — 2007. — Vol. 158. — P. 651—658.
 220. Sidhu M.S., Heir E., Sorum H. et al. Genetic linkage between resistance to quaternary ammonium compounds and beta-lactam antibiotics in food-related *Staphylococcus spp.* // Microb. Drug. Resist. — 2001. — Vol. 7. — P. 363—371.
 221. Sidhu M.S., Heir E., Leegaard T. et al. Frequency of disinfectant resistance genes and genetic linkage with beta-lactamase transposon Tn552 among clinical staphylococci // Antimicrob. Agents. Chemother. — 2002. — Vol. 46. — P. 2797—2803.
 222. Levings R.S., Partridge S.R., Djordjevic S.P. et al. SGI1-K, a variant of the SGI1 genomic island carrying a mercury resistance region, in *Salmonella enterica* serovar Kentucky // Antimicrob. Agents. Chemother. — 2007. — Vol. 51. — P. 317—323.
 223. Beaber J.W., Hochhut B., Waldor M.K. SOS response promotes horizontal dissemination of antibiotic resistance genes // Nature. — 2004. — Vol. 427. — P. 72—74.
 224. Ubeda C., Maiques E., Knecht E. et al. Antibiotic-induced SOS response promotes horizontal dissemination of pathogenicity island-encoded virulence factors in *Staphylococci* // Mol. Microbiol. — 2005. — Vol. 56. — P. 836—844.
 225. Doublet B., Lailier R., Meunier D. et al. Variant *Salmonella* genomic island 1 antibiotic resistance gene cluster in *Salmonella enterica* serovar Albany // Emerg. Infect. Dis. — 2003. — Vol. 9. — P. 585—591.

226. Doublet B., Golding G.R., Mulvey M.R. et al. Secondary chromosomal attachment site and tandem integration of the mobilizable *Salmonella* genomic island 1 // PLoS ONE. — 2008. — N 3. — e2060.
227. Ochman H., Lawrence J.G., Groisman E.A. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation // Nature. — 2000. — Vol. 405. — P. 299—304.
228. Gaillard M., Pernet N., Vogne C. et al. Host and invader impact of transfer of the *clc* genomic island into *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 // Proc. Natl. Acad. Sci USA. — 2008. — Vol. 105. — P. 7058—7063.
229. Paulsen I.T., Brown M.H., Skurray R.A. Characterization of the earliest known *Staphylococcus aureus* plasmid encoding a multidrug efflux system // J. Bacteriol. — 1998. — Vol. 180. — P. 3477—3479.
230. Noguchi N., Suwa J., Narui K. et al. Susceptibilities to antiseptic agents and distribution of antiseptic-resistance genes *qacA/B* and *smr* of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Asia during 1998 and 1999 // J. Med. Microbiol. — 2005. — Vol. 54. — P. 557—565.
231. Laraki N., Galleni M., Thamm I. et al. Structure of *In31*, a *bla*IMP-containing *Pseudomonas aeruginosa* integron phylogenically related to *In5*, which carries an unusual array of gene cassettes // Antimicrob. Agents. Chemother. — 1999. — Vol. 43. — P. 890—901.
232. Sekiguchi J., Asagi T., Miyoshi-Akiyama T. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strain that caused an outbreak in a neurosurgery ward and its *aac* (6')-*lae* gene cassette encoding a novel aminoglycoside acetyltransferase // Antimicrob. Agents. Chemother. — 2005. — Vol. 49. — P. 3734—3742.
233. Sekiguchi J., Asagi T., Miyoshi-Akiyama T. et al. Outbreaks of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in community hospitals in Japan // J. Clin. Microbiol. — 2007. — Vol. 45. — P. 979—989.
234. Wang C., Cai P., Guo Y. et al. Distribution of the anti-septic-resistance genes *qacEDelta1* in 331 clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in China // J. Hosp. Infect. — 2007. — Vol. 66. — P. 93—95.
235. Dantas G., Sommer M.O., Oluwasegun R.D. et al. Bacteria subsisting on antibiotics // Science. — 2008. — Vol. 320. — P. 100—103.
236. Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases // Nat. Rev Microbiol. — 2004. — N 2. — P. 95—108.
237. Lynch S.A., Robertson G.T. Bacterial and fungal biofilm infections // Ann. Rev Med. — 2008. — Vol. 59. — P. 415—428.
238. Lewis K. Riddle of biofilm resistance // Antimicrob. Agents. Chemother. — 2001. — Vol. 45. — P. 999—1007.
239. Sedlacek M.J., Walker C. Antibiotic resistance in an *in vitro* subgingival biofilm model // Oral. Microbiol. Immunol. — 2007. — Vol. 22. — P. 333.
240. Williams G.J., Stickler D.J. Effect of triclosan on the formation of crystalline biofilms by mixed communities of urinary tract pathogens on urinary catheters // J. Med. Microbiol. — 2008. — Vol. 57 (Pt 9). — P. 1135—1140.
241. Kim H., Ryu J.H., Beuchat L.R. Effectiveness of disinfectants in killing *Enterobacter sakazakii* in suspension, dried on the surface of stainless steel, and in a biofilm // Appl. Environ. Microbiol. — 2007. — Vol. 73. — P. 1256—1265.
242. Gaze W.H., Abdoulsam N., Hawkey P.M. et al. Incidence of class-1 integrons in a quaternary ammonium compound-polluted environment // Antimicrob. Agents. Chemother. — 2005. — Vol. 49. — P. 1802—1807.
242. Seaman P., Ochs D., Day M.J. Small-colony variants: a novel mechanism for triclosan resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // J. Antimicrob. Chemother. — 2007. — Vol. 59. — P. 43—50.
243. OJEC (Official Journal of the European Community). Council resolution of 8 June 1999 on antibiotic resistance, 'A strategy against microbial threat. OJEC, 1999. — C195. — P. 1—3.

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ К АНТИБИОТИКАМ И БИОЦИДАМ

А.Г. Салманов

Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П.Л. Шупика, Киев, Украина

Реферат

Резистентность бактериальной патогенной микрофлоры к антибиотикам повышается, что приводит к терапевтическим неудачам при лечении инфекционных заболеваний человека и животных. Это наблюдается во всех странах. Бактерии способны быстро адаптироваться к новым условиям окружающей среды и выживают при воздействии противомикробных средств благодаря развитию разных механизмов резистентности. Резистентность бактерий к действию противомикробных средств возрастает пропорционально увеличению применения веществ противомикробного действия. В отличие от проблемы резистентности к антибиотикам актуальность проблемы стойкости бактерий к разным типам биоцидов установлена относительно недавно.

Некоторые механизмы резистентности к биоцидам и антибиотикам являются общими. Результаты бактериологических, биохимических и генетических исследований свидетельствуют о том, что применение активных молекул в продуктах биоцидного действия может способствовать увеличению количества штаммов бактерий, резистентных к антибиотикам. Селективный стресс, вызванный влиянием биоцидов, может обуславливать возникновение новых механизмов резистентности бактерий и их распространения. Некоторые биоциды могут способствовать сохранению мобильных генетических элементов, носителей генов, кодирующих перекрестную резистентность к биоцидам и антибиотикам.

Распространение этих мобильных элементов, их генетическая организация и способность к накоплению в биопленках обеспечивают условия, в которых повышается потенциальный риск развития перекрестной резистентности к антибиотикам и биоцидам.

Из-за недостаточности точных данных, в частности, о количестве использованных антибиотиков и биоцидов, невозможно определить, какие именно биоциды больше всего повышают риск возникновения резистентности к антибиотикам. Предполагают, что механизм развития резистентности бактерий запускается благодаря горизонтальной передаче генов и параллельному каскаду регулирующих сигналов, стимулированных воздействием химических соединений, действующих как биоциды. Необходимо провести дополнительные исследования для определения механизмов развития перекрестной резистентности, возникновения резистентных к антибиотикам бактерий под влиянием биоцидов в разных областях их применения (например, в медицине, ветеринарии, пищевой промышленности, при изготовлении косметической продукции и других потребительских товаров).

Ключевые слова: антибиотики, биоциды, резистентность, бактерии.

RESISTANCE TO ANTIBIOTICS AND BIOCIDES

A.G. Salmanov

Shupik National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

Summary

Resistance of bacterial pathogens to antibiotics has increased worldwide, leading to treatment failures in human and animal infectious diseases. Bacteria have the capacity to adapt rapidly to new environmental conditions and can survive exposure to antimicrobials by using a battery of resistance mechanisms. The frequency of antimicrobial resistance in bacteria has increased in concert with increasing usage of antimicrobial compounds. Bacterial resistance against different types of biocides has been reported and characterised only relatively recently when compared to our understanding of antibiotic resistance.

Some resistance mechanisms are common to both biocides and antibiotics. Scientific evidence from bacteriological, biochemical and genetic data does indicate that the use of active molecules in biocidal products may contribute to the increased occurrence of antibiotic resistant bacteria. The selective stress exerted by biocides may favour bacteria expressing resistance mechanisms and their dissemination. Some biocides have the capacity to maintain the presence of mobile genetic elements that carry genes involved in cross-resistance between biocides and antibiotics. The dissemination of these mobile elements, their genetic organisation and the formation of biofilms, provide conditions that could create a potential risk of development of cross-resistance between antibiotics and biocides.

To date, the lack of precise data, in particular on quantities antibiotics and of biocides used, makes it impossible to determine which biocides create the highest risk of generating antibiotic resistance. However, horizontal gene transfer and overlapping genetic cascades of regulation that can be stimulated by external chemical compounds such as biocides are likely triggers of bacterial resistance.

Additional studies are needed on the mechanisms of cross-resistance, emergence of biocide-induced antibiotic resistance in different fields of application (e.g. health care, veterinary uses, food production, cosmetics, consumer products).

Key words: antibiotics, biocides, resistance, bacteria.

Citation: Salmanov AG. Resistance to antibiotics and biocides. *International Journal of Antibiotics and Probiotics*. 2017 Dec; 1 (2): 92-125 [in Ukrainian].

Адреса для листування

04112, Україна, м. Київ, вул. Дорогожицька, 9
Національна медична академія післядипломної
освіти імені П.Л. Шупика, кафедра мікробіології,
епідеміології та інфекційного контролю
Тел. роб. +38 (044) 205-49-67
E-mail: mozsago@gmail.com
Салманов Айдин Гурбанович

Інформація про автора

Салманов А.Г. — д. мед. н., професор, завідувач
кафедри мікробіології, епідеміології та інфекцій-
ного контролю Національної медичної академії
післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, голова
Всеукраїнської асоціації інфекційного контролю
та антимікробної резистентності, національний
координатор з антимікробної резистентності
та інфекційного контролю

Address for correspondence

04112, Ukraine, Kyiv, 9 Dorohozhytska St.
Shupyk National Medical Academy of Postgraduate
Education, Department of Microbiology,
Epidemiology and Infection Control
Tel./fax +38 (044) 205-49-67
E-mail: mozsago@gmail.com
Aidyn Salmanov

About the author

Aidyn Salmanov — MD, Professor, Head of the
Department of Microbiology, Epidemiology and
Infection Control of Shupyk National Medical Academy
of Postgraduate Education, President of Ukrainian
Association of Infection Control and Antimicrobial
Resistance, National Coordinator of Antimicrobial
Resistance and Infection Control