

- factors in chronic diseases of the nasopharynx of children development. *Lechashchiy vrach*. 2013; (1): 26—30. (in Russian)
14. Babachenko I.V., Levina A.S., Sedenko O.V., Sharipova E.V., Vlasyuk V.V., Murina E.A. et al. The effectiveness of different methods of etiologic diagnosis in sickly children with chronic Epstein-Barr virus and cytomegalovirus infections. *Zdorov'e. Meditsinskaya ekologiya*. Nauka. 2009; 37(2): 13—5. (in Russian)
 15. Brusnigina N.F., Speranskaya E.V., Chernevskaya O.M., Makhova M.A., Orlova K.A., Klenina N.N. Analysis Nerpesviridae family of viruses spread sredi Nizhny Novgorod children. *Meditsinskiy al'manakh*. 2013; (2): 99—103. (in Russian)
 16. Malyuzhinskaya N.V., Polyakova O.V. Clinical features frequently ill children with chronic diseases of the respiratory tract of Volgograd. *Volgogradskiy nauchno-meditsinskiy zhurnal*. 2014; (1): 39—42. (in Russian)
 17. Chen T., Hudnall S.D. Anatomical mapping of human herpesvirus reservoirs of infection. *Mod. Pathol*. 2006; 19(5): 726—37.
 18. Karlidag T., Bulut Y., Keles E., Alpay H.C., Seyrek A., Orhan I. et al. Presence of herpesviruses in adenoid tissues of children with adenoid hypertrophy and chronic adenoiditis. *Kulak Burun Bogaz Ihtis. Derg.* 2012; 22(1): 32—7.
 19. Brandtzaeg P. Immune functions of nasopharyngeal lymphoid tissue. *Adv. Otorhinolaryngol*. 2011; 72: 20—4.
 20. Al-Salam S., Dhaheri S.A., Awwad A., Daoud S., Shams A., Ashari M.A. Prevalence of Epstein-Barr virus in tonsils and adenoids of United Arab Emirates nationals. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol*. 2011; 75(9): 1160—6.
 21. Sahin F., Gerceker D., Karasartova D., Ozsan T.M. Detection of herpes simplex virus type 1 in addition to Epstein-Bar virus in tonsils using a new multiplex polymerase chain reaction assay. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis*. 2007; 57: 47—51.
 22. Ren T., Glatt D.U., Nguyen T.N., Allen E.K., Early S.V., Sale M. et al. 16S rRNA survey revealed complex bacterial communities and evidence of bacterial interference on human adenoids. *Environ. Microbiol*. 2013; 15(2): 535—47.
 23. Calo L., Passali G.C., Galli J., Fadda G., Paludetti G. Role of biofilms in chronic inflammatory diseases of the upper airways. *Adv. Otorhinolaryngol*. 2011; 72: 93—6.
 24. Kotlukov V.K., Kuz'menko L.G., Blokhin B.M., Antipova N.V., Kodolova T.S. Pediatrya. Features of the immune status and often chronically ill young children with asthma. *Zhurnal imeni G.N. Speranskogo*. 2007; 86(4): 25—8. (in Russian)

Поступила 11.07.16

Принята к печати 01.08.16

© ШИПИЦЫНА И.В., ОСИПОВА Е.В., 2017

УДК 579.842.21: 579.253.083.1

Шипицына И.В., Осипова Е.В.

БИОПЛЕНКООБРАЗОВАЮЩАЯ СПОСОБНОСТЬ ШТАММОВ *SERRATIA SPP.*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАН БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ В МОНОКУЛЬТУРАХ И В СОСТАВЕ АССОЦИАЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПОЛУЧЕННЫХ *IN VITRO*

ФГБУ «Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Минздрава России», 640014, Курган

Изучены адгезивные свойства 7 клинических штаммов Serratia marcescens, выделенных из свищей в дооперационном периоде и из очага воспаления во время операций в 2013–2015 гг. у 7 пациентов с хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей.

Бактерии S. marcescens выделены у одного пациента в монокультуре и у 6 в составе ассоциаций: S. marcescens + S. warneri + P. aeruginosa (n = 1); S. marcescens + S. aureus (n = 4); S. marcescens + M. morgani (n = 1).

По данным фотометрического анализа, штаммы S. marcescens характеризовались средней способностью к биопленкообразованию на поверхностях полистироловых планшетов и покровного стекла, что подтверждается значениями оптической плотности и согласуется с данными их адгезивной активности.

Биопленкообразующая способность ассоциаций микроорганизмов (S. marcescens + P. aeruginosa, S. marcescens + M. morgani) уже через 24 ч эксперимента в 1,4 и 1,2 раза соответственно была выше уровней биопленкообразования монокультур. Активность биопленкообразования ассоциации (S. marcescens + S. aureus) на 1-е сутки эксперимента была низкой, однако через 48 ч наблюдали значительный рост биопленки, что подтверждается значениями оптической плотности.

Результаты нашего исследования показали способность всех клинических штаммов S. marcescens, выделенных из остеомиелитического очага, к адгезии на поверхности эритроцитов и к биопленкообразованию на абиотических поверхностях (полистирол и стекло) как в монокультуре, так и в ассоциациях с другими микроорганизмами.

Учитывая, что микробные биопленки играют ведущую роль в хронизации инфекционных заболеваний, необходимо осознавать серьезность этиологической роли S. marcescens в развитии остеомиелита как патогена.

К л ю ч е в ы е с л о в а: хронический остеомиелит; биопленкообразующая способность; адгезия.

Для цитирования: Шипицына И.В., Осипова Е.В. Биопленкообразующая способность штаммов *Serratia spp.*, выделенных из ран больных хроническим остеомиелитом в монокультурах и в составе ассоциации микроорганизмов, полученных *in vitro*. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2017; 62 (3): 188–192. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-188-192>

Shipitsyna I.V., Osipova E.V.

THE BIOFILM FORMATION ABILITY OF STRAINS *SERRATIA SPP.*, SEPARATED FROM WOUNDS OF PATIENTS WITH CHRONIC OSTEOMYELITIS IN MONO-CULTURES AND IN COMPOSITION OF ASSOCIATION OF MICROORGANISMS HARVESTED IN VITRO

The academician G.A. Ilizarov Russian research center «Restorative traumatology and orthopedics» of Minzdrav of Russia, 640014 Kurgan, Russia

The article presents analysis of characteristics of 7 clinical strains of *Serratia marcescens* separated from fistulas in pre-operational period and from nidus of inflammation during operations in 2013-2015. In 7 patients with chronic osteomyelitis of long tubular bones. The bacteria *S.marcescens* are separated in one patient in monoculture and in 6 patients in composition of associations: *S.marcescens* + *S.warneri* + *Paeruginosa* (n=1); *S.marcescens* + *S.aureus* (n=4); *S.marcescens* + *M.morganii* (n=1). According phometric analysis, strains of *S.marcescens* were characterized by average ability for biofilm formation on the surfaces of polystyrene dishes and cover glass that is substantiated by values of optic density and is conformed to data of their adhesion activity.

The biofilm formation ability of association of microorganisms (*S.marcescens* + *Paeruginosa*, *S.marcescens* + *M.morganii*) already after 24 hours of experiment were correspondingly higher in 1.4 and 1.2 times of levels of biofilm formation in monocultures. The activity of biofilm formation of association (*S.marcescens* + *S.aureus*) on the first day of experiment was low. However, after 48 hours a significant growth of biofilm was observed that is substantiated by values of optical density. The results of study demonstrated ability of all clinical strains of *S.marcescens* separated from osteomyelitis nidus to adhesion on surface of erythrocytes and to biofilm formation on abiotic surfaces (polystyrene and glass) both in monoculture and associations with other microorganisms.

In consideration that microbial films play leading role in chronization of infectious diseases it is necessary to be aware of seriousness of etiologic role of *S.marcescens* in development of osteomyelitis as a pathogen.

Key words: chronic osteomyelitis; biofilm formation; ability; adhesion

For citation: Shipitsyna I.V., Osipova E.V. The biofilm-forming capacity of strains *Serratia* spp., separated from wounds of patients with chronic osteomyelitis in mono-cultures and in composition of association of microorganisms harvested in vivo. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (3): 188-192. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-3-188-192>*

For correspondence: Shipitsyna I.V., candidate of biological sciences, research worker of laboratory of microbiology and immunology. e-mail: IVSchimik@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 10.06.2016
Accepted 01.07.2016

Введение. Хронический остеомиелит остается одной из актуальных проблем гнойной ортопедии [1]. При анализе данных бактериологического обследования пациентов с хроническим остеомиелитом установлено, что у 43% больных инфекционный процесс протекает с участием различных видов грамотрицательных микроорганизмов [2]. Один из них, *Serratia marcescens*, выделяется, по разным данным, в единичных случаях и не превышает 3,9% [2, 3].

Serratia marcescens (семейство *Enterobacteriaceae*) – относится к условно-патогенным микроорганизмам, способным вызывать гнойно-воспалительные процессы различной локализации, в тех случаях, когда создаются условия для их интенсивного размножения, обусловленные наличием таких факторов патогенности, как фимбрии, гемолизины, сидерофорная система, протеазы и термолabileный цитотоксин, а также резко снижена естественная сопротивляемость макроорганизма [4– 6]. Хорошо изучена этиологическая роль штаммов *S. marcescens* в развитии госпитальных бактериемий и пневмоний, инфекций мочевыводящих путей, хирургических ран и гнойно-септических поражений кожи [7]. Бактерии *Serratia* spp. принадлежат к группе мультирезистентных энтеробактерий, некоторые из штаммов способны продуцировать фермент ESBL (бета-лактамазы расширенного спектра) [8, 9].

Как и другие бактерии, *S. marcescens* может формировать биопленки, однако в литературе отсутствуют работы, посвященные исследованию способности к биопленкообразованию данного возбудителя, выделенного из остеомиелитического очага, что свидетельствует об актуальности исследования.

Цель исследования – изучить биопленкообразующую способность клинических штаммов бактерий рода *Serratia*, выделенных у пациентов с хроническим остеомиелитом.

Материал и методы. В исследование, которое проводилось с 2013 по 2015 г., включены 7 клинических штаммов *Serratia marcescens*, выделенных из свищей в дооперационном периоде и из очага воспаления, во время операции у 7 пациентов с хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей.

Изучена биопленкообразующая способность монокультур

S. marcescens, *P. aeruginosa*, *M. morganii*, *S. aureus*, *S. warneri* в сравнении с ассоциациями, полученными *in vitro*: *S. marcescens* + *S. warneri* + *P. aeruginosa* (n = 1); *S. marcescens* + *S. aureus* (n = 4); *S. marcescens* + *M. morganii* (n = 1).

Идентификацию исследуемых штаммов выполняла науч. сотр. Л.В. Розова на бактериологическом анализаторе WalkAway-40 Plus (Siemens, США).

Адгезивную активность штаммов изучали на модели эритроцитов человека А (II) Rh+ по методике В.И. Бриллиса [10]. При оценке адгезивных свойств использовали индекс адгезивности микроорганизмов (ИАМ). Исследование проводили под световым микроскопом, учитывая не менее 50 эритроцитов. Микроорганизмы считали неадгезивными при ИАМ до 1,75; низкоадгезивными – от 1,76 до 2,5; среднеадгезивными – от 2,51 до 4,0; высокоадгезивными – при ИАМ $\geq 4,1$.

Биопленку на поверхностях полистироловых планшетов и покровного стекла получали по описанным ранее методикам [11]. В качестве контроля использовали стерильный мясосоптонный бульон (МПБ).

Активность формирования биопленки на поверхности полистирола оценивали по уровню адсорбции красителя этанолом, измеренному в единицах оптической плотности (OD_{630}) на фотометре ELx808 (BioTek, США) при длине волны 630 нм. В зависимости от величины оптической плотности (OD_{630}) считали, что штаммы не обладали способностью к образованию биопленки при значениях $OD_{630} < 0,090$; при $0,090 < OD_{630} \leq 0,180$ – штаммы обладали слабой; при $0,180 < OD_{630} \leq 0,360$ – средней; при $OD_{630} > 0,360$ – высокой способностью к образованию биопленки.

Биопленку, выращенную на поверхности покровного стекла, исследовали под микроскопом при увеличении в 640 раз (об. 40; ок. 16). Цифровые изображения полей зрения получали с помощью цифровой камеры-окуляра DCM-300 (Китай), установленной на бинокулярном микроскопе XSP107E.

Для определения количественных характеристик использовали программу ImageJ (США). На цифровых изображениях препаратов измеряли площадь поля зрения, количество и площадь, занимаемую единичными адгезированными клетками и микроколониями.

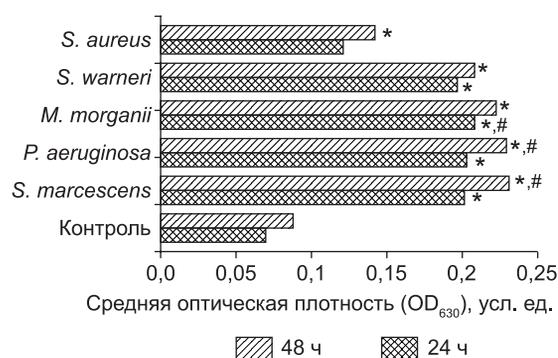


Рис. 1. Биопленкообразующая способность клинических штаммов через 24 и 48 ч эксперимента.

Здесь и на рис. 2: * – $p < 0,05$ – различия значимы по сравнению с контролем; # – $p < 0,05$ – различия значимы по сравнению с данными, полученными через 24 ч эксперимента.

Рассчитывали количество единичных адгезированных клеток и микроколоний на единицу площади (1мм^2) и доли, занимаемые ими в площади поля зрения. При этом учитывали размер микроколоний: до 10 мкм^2 ; от 10 до 100 мкм^2 ; от 100 до 1000 мкм^2 ; от 1000 до 10000 мкм^2 ; $> 10000\text{ мкм}^2$. С каждого препарата вводили не менее 20 случайных полей зрения, полученные результаты усредняли.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного обеспечения анализа данных AtteStat, версия 13.0 [12]. Значимость различий между группами проверяли с помощью непараметрических критериев Вилкоксона и Манна–Уитни. Различия между группами наблюдений считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты. По результатам микробиологического исследования штаммы *S. marcescens* были выделены у одного пациента в монокультуре и у 6 в составе ассоциаций: *S. marcescens* + *S. warneri* + *P. aeruginosa* ($n = 1$); *S. marcescens* + *S. aureus* ($n = 4$); *S. marcescens* + *M. morgani* ($n = 1$).

ИАМ штаммов *S. marcescens* составил $3,45 \pm 0,28$ ед., что соответствовало среднеадгезивной активности. Штаммы *S. aureus* обладали низкоадгезивными свойствами (ИАМ – $1,85 \pm 0,13$ у. е.), штаммы *P. aeruginosa*, *M. morgani*, *S. warneri* – среднеадгезивными свойствами: $2,74 \pm 0,12$; $2,71 \pm 0,10$; $2,60 \pm 0,15$ у. е. соответственно.

По данным фотометрического анализа, штаммы *S. marcescens*, *P. aeruginosa*, *M. morgani*, *S. warneri* характеризовались средней биопленкообразующей способностью, штаммы *S. aureus* – низкой, что согласуется с результатами адгезивной активности (рис. 1).

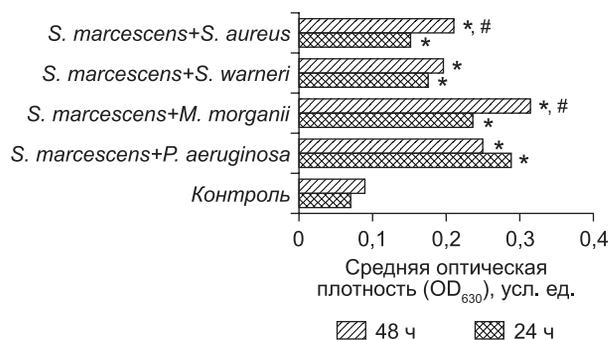


Рис. 2. Биопленкообразующая способность ассоциаций, полученных *in vitro* через 24 и 48 ч эксперимента.

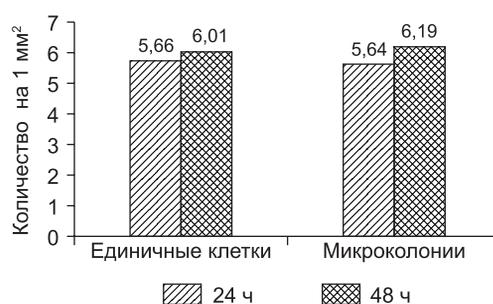


Рис. 3. Соотношение количества единичных адгезированных клеток и микроколоний, формируемых штаммами *S. marcescens* в монокультуре на поверхности покровного стекла через 24 и 48 ч.

Через 24 ч эксперимента значения биопленкообразующей способности ассоциаций микроорганизмов (*S. marcescens* + *P. aeruginosa*, *S. marcescens* + *M. morgani*) в 1,4 и 1,2 раза соответственно превышали уровни биопленкообразования монокультур. Ассоциация штаммов (*S. marcescens* + *S. warneri*) характеризовалась слабой биопленкообразующей способностью, несмотря на средние показатели интенсивности биопленкообразования их монокультур (рис. 2). Уровень биопленкообразования ассоциации (*S. marcescens* + *S. aureus*) составил $0,153 \pm 0,022$ ед. опт. пл., что в 1,3 раза выше биопленкообразующей способности штаммов *S. aureus* и в 1,3 ниже по сравнению с OD_{630} штаммов *S. marcescens*.

Через 48 ч наблюдали рост биопленок, что подтверждается значениями оптической плотности (см. рис. 1, 2). Интенсивность биопленкообразования ассоциации микроорганизмов (*S. marcescens* + *M. morgani*) была в 1,4 раза выше по сравнению с OD_{630} монокультур исследуемых клинических штаммов (см. рис. 2). OD_{630} ассоциации микроорганизмов *S. marcescens* + *S. aureus* и *S. marcescens* + *S. warneri* составила $0,212 \pm 0,011$ и $0,197 \pm 0,012$ ед. опт. пл. соответственно, что указывало на средний уровень биопленкообразования.

Все клинические штаммы обладали способностью к биопленкообразованию на поверхности покровного стекла как в монокультуре, так и в ассоциации.

Количество адгезированных клеток и микроколоний бактерий рода *Serratia* в монокультуре на этапах

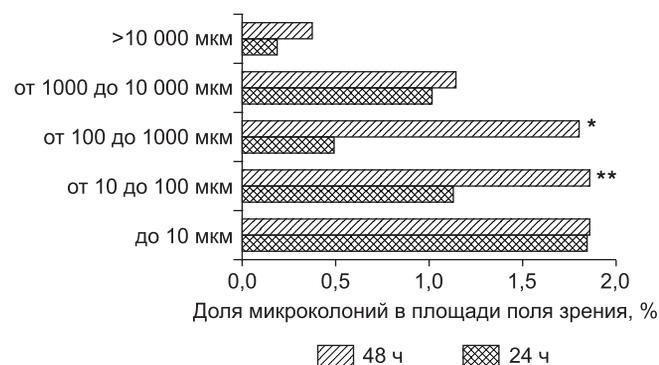


Рис. 4. Соотношение долей микроколоний, формируемых на поверхности покровного стекла штаммами *S. marcescens* в монокультуре через 24 и 48 ч.

Различия значимы по сравнению со сроком эксперимента 24 ч: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$.

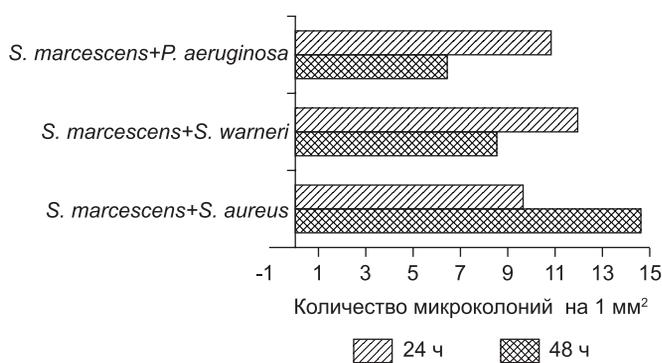


Рис. 5. Соотношение количества микроколоний ассоциаций клинических штаммов, полученных *in vitro* на поверхности покровного стекла через 24 и 48 ч.

эксперимента представлено на рис. 3. Даже их незначительное увеличение приводило к изменению соотношения долей микроколоний различного размера (рис. 4).

При сокультивировании *S. marcescens* с клиническими изолятами *S. aureus*, *S. warneri*, *P. aeruginosa* в ассоциациях, полученных *in vitro*, в 1,7 (*S. aureus*)–19,6 (*P. aeruginosa*) раза увеличивалось количество единичных адгезированных клеток по сравнению с монокультурами штаммов.

Количество микроколоний в ассоциациях по сравнению с монокультурами не всегда увеличивалось (*S. marcescens* + *S. aureus*; *S. marcescens* + *P. aeruginosa*): иногда и уменьшалось (*S. marcescens* + *S. warneri*).

Сравнение активности биопленкообразования на поверхности покровного стекла *S. marcescens* в ассоциациях с *S. aureus*, *S. warneri*, *P. aeruginosa* представлено на рис. 5 и 6. Через 48 ч эксперимента происходит уменьшение количества и доли микроколоний в ассоциации *S. marcescens* с *P. aeruginosa*, увеличение этих же показателей в ассоциации *S. marcescens* с *S. aureus* и уменьшение количества при одновременном увеличении доли микроколоний в ассоциации *S. marcescens* с *S. warneri*. Данные изменения зависели от структуры формирующейся биопленки.

Так, в ассоциации *S. marcescens* + *S. aureus* изменение анализируемых показателей происходило за счет увеличения количества и долей микроколоний размером до 10 000 мкм² и появлением микроколоний размером >10 000 мкм².

В ассоциации *S. marcescens* + *S. warneri* отмечено снижение количества микроколоний размером до 10 000 мкм², при этом наблюдали образование единичных микроколоний раз-

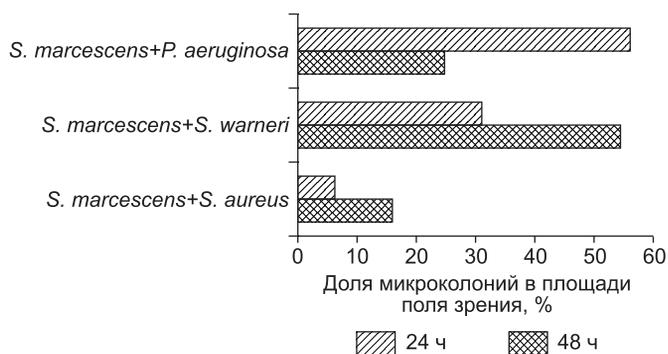


Рис. 6. Соотношение долей микроколоний ассоциаций клинических штаммов, полученных *in vitro* на поверхности покровного стекла через 24 и 48 ч.

мером >10 000 мкм², что приводило к увеличению суммарной доли микроколоний в площади поля зрения в 1,7 раза.

В ассоциации *S. marcescens* + *P. aeruginosa* через 48 ч происходило уменьшение количества и доли микроколоний, размер которых не превышал 1000 мкм². Одновременно в 2 раза увеличивалось количество микроколоний размером от 1000 до 10 000 мкм², соответственно их доля в площади поля зрения возрастала в 7,3 раза. Уменьшение суммарной доли микроколоний на данном сроке эксперимента было связано с отсутствием микроколоний размером > 10 000 мкм.

Обсуждение. Бактерии *S. marcescens* относятся к редким возбудителям хронического остеомиелита. Обычно они ассоциируются с внутрибольничными инфекциями [13].

Способность бактерий *S. marcescens* вызывать инфекционный процесс и размножаться в макроорганизме обусловлена наличием у них ряда факторов, определяющих их адгезивную, колонизирующую, цитотоксическую и энтеротоксическую активность [14–16].

С адгезией к различным субстратам связана способность бактерий к формированию биопленок, в составе которых клетки защищены от неблагоприятных воздействий физических, химических и биологических факторов [17]. Адгезия бактерий *S. marcescens* инициируется за счет ассоциации с поверхностью пилей I типа и основных белков наружной мембраны [14]. Известно, что степень адгезии и способность к пленкообразованию среди микроорганизмов одного вида, выделенных из разных источников, коррелирует со степенью вирулентности [18].

Вирулентные свойства, в том числе и способность к биопленкообразованию, *S. marcescens* в условиях ослабленного иммунитета, способствует длительной персистенции возбудителя и прогрессированию гнойного процесса [19, 20]. Это подтверждается тем, что хронический остеомиелит, вызванный бактериями рода *Serratia*, чаще развивается у лиц с иммунодефицитом; наркоманов, вводящих наркотики внутривенно, а также может быть следствием открытой травмы или внутрисуставных инъекций [6]. Вероятность развития остеомиелита увеличивается при наличии сопутствующих заболеваний (сахарный диабет, алкоголизм, онкология, последействие терапии кортикостероидами) [19].

Заключение. Результаты нашего исследования показали способность всех клинических штаммов *S. marcescens*, выделенных из остеомиелитического очага, к адгезии на поверхности эритроцитов и к биопленкообразованию на абиотических поверхностях (полистирол и стекло) как в монокультуре, так и в ассоциациях с другими микроорганизмами.

Учитывая, что микробные биопленки играют ведущую роль в хронизации инфекционных заболеваний, необходимо осознавать серьезность этиологической роли *S. marcescens* в развитии остеомиелита как патогена.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 6–9, 13–20 см. REFERENCES)

1. Ключин Н.М., Аронович А.М., Шляхов В.И., Злобин А.В. Новые технологии лечения больных хроническим остеомиелитом – итог сорокалетнего опыта применения метода чрескостного остеосинтеза. *Гений ортопедии*. 2011; (2): 27–33.
2. Яковлев С.В. Имипенем. Оценка роли препарата при антибактериальной терапии тяжелых госпитальных инфекций. *Антибиотики и химиотерапия*. 1999; 44 (5): 33–8.
3. Розова Л.В. Изменение видового состава микрофлоры у больных хроническим остеомиелитом в процессе лечения. *Гений ортопедии*. 2008; (2): 92–5.
4. Воробьев А.А., ред. *Микробиология и иммунология: учебник*. М.: Медицина; 1999.

5. Апрелев А.Е., Яковлева Н.А., Вальшев А.В. Случай язвы роговицы, вызванной *Serratia marcescens*. *Вестник офтальмологии*. 2013; 129 (1): 53–5.
10. Бриллис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов. *Лабораторное дело*. 1986; (4): 210–2.
11. Осипова Е.В., Шипицына И.В. Исследование адгезивных характеристик уропатогенных штаммов *Escherichia coli* у пациентов с позвоночно-спинномозговой травмой. *Урология*. 2014; (2): 20–4.
12. Гайдышев И.П. *Решение научных и инженерных задач средствами Excel, VBA и C/C++: учебник*. СПб.: ВХВ Петербург; 2004.
10. Brillis V.I., Brilene T.A., Lentsner Kh.P., Lentsner A.A. A technique of studying the adhesive process of microorganisms. *Laboratornoe delo*. 1986; (4): 210–2. (in Russian)
11. Osipova E.V., Shipitsyna I.V. Evaluation of the adhesive characteristics of uropathogenic *Escherichia coli* strains in patients with spinal cord injuries. *Urologiya*. 2014; (2): 20–4. (in Russian)
12. Gaydyshev I.P. *Solution of Scientific and Engineering Problems by Excel VBA and C/C++ Means: A Textbook [Reshenie nauchnykh i inzhenernykh zadach sredstvami Excel, VBA i C/C++: uchebnik]*. St. Petersburg: VKhV Peterburg; 2004. (in Russian)
13. Sader H.S., Farrell D.J., Flamm R.K., Jones R.N. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalized in intensive care units in United States and European hospitals (2009–2011). *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2014; 78 (4): 443–8.
14. Hornsey M., Ellington M.J., Doumith M., Hudson S., Livermore D.M., Woodford N. Tigecycline resistance in *Serratia marcescens* associated with up-regulation of the SdeXY-HasF efflux system also active against ciprofloxacin and ceftiofime. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65 (3): 479–82.
15. Hertle R. The family of *Serratia* type pore forming toxins. *Curr. Protein Pept. Sci.* 2005; 6 (4): 313–25.
16. Kurz C.L., Chauvet S., Andrès E., Aurouze M., Vallet I., Michel G.P. et al. Virulence factors of the human opportunistic pathogen *Serratia marcescens* identified by in vivo screening. *EMBO J.* 2003; 22 (7): 1451–60.
17. Kaplan J.B. Biofilm dispersal: Mechanisms, clinical implications, and potential therapeutic uses. *J. Dent. Res.* 2010; 89 (3): 205–18.
18. Zhu J. Quorum-sensing regulators control virulence gene expression in *Vibrio cholerae*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 2002; 99: 3129–34.
19. Hornsey M., Ellington M.J., Doumith M., Hudson S., Livermore D.M., Woodford N. et al. Tigecycline resistance in *Serratia marcescens* associated with up-regulation of the SdeXY-HasF efflux system also active against ciprofloxacin and ceftiofime. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010; 65 (3): 479–82.
20. Rice S.A., Koh K.S., Queck S.Y., Labbate M., Lam K.W., Kjelleberg S. Biofilm formation and sloughing in *Serratia marcescens* are controlled by quorum sensing and nutrient cues. *J. Bacteriol.* 2005; 187 (10): 3477–85.

Поступила 10.06.16

Принята к печати 01.07.16