



Биоплёнки метициллин-резистентных стафилококков и возможность борьбы с ними с помощью хлоргексидина и полигексанида: перспективы использования в реальной клинической практике

Гордина Е. М.¹, Шахматова А. Д.¹, Касимова А. Р.^{1,2}, Торопов С. С.¹, Божкова С. А.¹

¹ ФГБУ «Национальный исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р. Р. Вредена», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени И. П. Павлова», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Аннотация

Введение. Ведущими возбудителями имплантат-ассоциированной инфекции являются *S. aureus* и *S. epidermidis*, характеризующиеся способностью формировать биоплёнки, представляющие серьёзную угрозу для жизни и здоровья пациентов. Антибиотикотерапия является неотъемлемой частью комплексного лечения инфекции, однако большую роль играет промывание области хирургического вмешательства после удаления инфицированных компонентов антисептиками, в том числе на основе растворов полигексанида или хлоргексидина.

Цель исследования. Оценить наличие генов биоплёнкообразования у метициллин-резистентных *S. aureus* и *S. epidermidis*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией, а также выполнить сравнительный анализ действия хлоргексидина и полигексанида на их биоплёнки.

Материалы и методы. Выделение культур выполняли в соответствии с международными стандартами микробиологических исследований. Идентификацию выполняли методом MALDI-TOF MS, антибиотикочувствительность определяли в соответствии с EUCAST. Выделение и очистку ДНК проводили с использованием Auto-Pure S32 и набора Магно-Сорб. Амплификацию осуществляли на приборе CFX-96. Визуализацию выполняли системой гель-документации ChemiDoc. Биоплёнки формировали 48 часов, а затем обрабатывали полигексанидом или хлоргексидином в течение 5, 10, 20, 40 минут. Деструктивное действие антисептиков определяли путём окраски генцианвиолетом и последующим сравнением с контролем. Наличие живых бактериальных клеток в биоплёнке после обработки препаратами оценивали с помощью раствора резазурина. Статистический анализ выполняли в GraphPad Prism 9.0.

Результаты. Выявлен ген *bar* и не обнаружено генов *ica*-оперона. MRSA характеризовались наличием 3-х маркерных генов, а штаммы MRSE имели один или два маркерных гена. Полигексанид более эффективно разрушал биомассу сформированных суточных биоплёнок *S. aureus* — носителей генов *bar*, *clfA/B*, в отличие от хлоргексидина. Полигексанид статистически значимо снижал биомассу при экспозиции более 10 минут. Аналогичная закономерность выявлена и в отношении биоплёнок MRSE. Кроме того, препараты практически полностью уничтожали sessile формы MRSE, а для бесплённых клеток MRSA более эффективным был полигексанид.

Заключение. Выполненное исследование позволило выявить основные генетические детерминанты биоплёнкообразования у метициллин-резистентных *S. aureus* и *S. epidermidis*. Установленные межвидовые генетические различия могут определять эффективность антисептиков и демонстрируют необходимость экспозиции изученных антисептических препаратов не менее 20 минут для достижения максимального действия на sessile клетки стафилококков.

Ключевые слова: *S. aureus*; *S. epidermidis*; биоплёнка; хлоргексидин; полигексанид

Для цитирования: Гордина Е. М., Шахматова А. Д., Касимова А. Р., Торопов С. С., Божкова С. А. Биоплёнки метициллин-резистентных стафилококков и возможность борьбы с ними с помощью хлоргексидина и полигексанида: перспективы использования в реальной клинической практике. *Реальная клиническая практика: данные и доказательства*. 2025;5(2):72-82. <https://doi.org/10.37489/2782-3784-myrwd-075>. EDN: NXKLWD.

Поступила: 28.04.2025. **В доработанном виде:** 29.05.2025. **Принята к печати:** 14.05.2025. **Опубликована:** 30.06.2025.

Methicillin-resistant staphylococci biofilms and the possibility of controlling them with chlorhexidine and polyhexanide: prospects for use in real clinical practice

Ekaterina M. Gordina¹, Alexandra D. Shakhmatova¹, Alina R. Kasimova^{1,2}, Sergey S. Toropov¹, Svetlana A. Bozhkova¹

¹Vreden National Medical Research Center for Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

²First St. Petersburg State Medical University named after I. P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation

Abstract

Introduction. The leading pathogens of implant-associated infection are *S. aureus* and *S. epidermidis*, characterized by the ability to biofilm formation, which pose a serious threat to the life and health of patients. Antibiotic therapy is an integral part of the complex treatment of infection, but washing the surgical area after the removal of infected components with antiseptics, including those based on polyhexanide or chlorhexidine, plays a major role.

Objective. To evaluate the presence of biofilm-forming genes in methicillin-resistant *S. aureus* and *S. epidermidis* isolated from patients with orthopedic infection and to perform a comparative analysis of the effect of chlorhexidine and polyhexanide on their biofilms.

Materials and methods. Cultures were isolated according to the international standards of microbiological research. Identification was performed by MALDI-TOF MS, and antibiotic susceptibility was determined according to EUCAST. DNA was isolated and purified using Auto-Pure S32 and the Magno-Sorb kit. Amplification was performed on a CFX-96 device. Visualization was performed using the ChemiDoc gel documentation system. Biofilms were formed for 48 hours and then treated with polyhexanide or chlorhexidine for 5, 10, 20, 40 minutes. The destructive effect of the antiseptics was determined by staining with gentian violet and subsequent comparison with the control. The presence of live bacterial cells in the biofilm after treatment with the drugs was assessed using a resazurin sodium salt. Statistical analysis was performed in GraphPad Prism 9.0.

Results. The *bap* gene was detected, and no *ica*-operon genes were found. MRSA were characterized by the presence of 3 marker genes, and MRSE strains had one or two marker genes. Polyhexanide was more effective in destroying the biomass of the formed daily biofilms of *S. aureus* — carriers of the *bap*, *clfA/B* genes, in contrast to chlorhexidine. Polyhexanide statistically significantly reduced the biomass with an exposure of more than 10 minutes. A similar pattern was found for the MRSE biofilms. In addition, the drugs almost destroyed the biofilm cells of MRSE, and polyhexanide was more effective against MRSA.

Conclusion. The study revealed the main genetic determinants of methicillin-resistant *S. aureus* and *S. epidermidis* biofilm formation. The established interspecies genetic differences can determine the effectiveness of antiseptics and demonstrate the need for exposure of the studied antiseptic for at least 20 minutes to achieve maximum effect on the biofilm cells of staphylococci.

Keywords: *S. aureus*; *S. epidermidis*; biofilm; chlorhexidine; polyhexanide

For citation: Gordina EM, Shakhmatova AD, Kasimova AR, Toropov SS, Bozhkova SA. Methicillin-resistant staphylococci biofilms and the possibility of controlling them with chlorhexidine and polyhexanide: prospects for use in real clinical practice. *Real-World Data & Evidence*. 2025;5(2):72-82. <https://doi.org/10.37489/2782-3784-myrwd-075>. EDN: NXKLWD.

Received: 28.04.2025. Revision received: 29.05.2025. Accepted: 14.05.2025. Published: 30.06.2025.

Введение / Introduction

Инфекции, связанные с образованием биоплёнок, являются существенным фактором, способствующим развитию хронических рецидивирующих заболеваний из-за устойчивости сесильных бактерий к антибиотикам, иммунной системе хозяина и другим внешним раздражителям. В травматологии и ортопедии с образованием биоплёнок связаны в первую очередь случаи развития имплантат-ассоциированной инфекции (ИАИ), так как большинство видов хирургического лечения нарушений опорно-двигательного аппарата требуют установки имплантатов (спиц, пластин, винтов, штифтов, эндопротезов и т.д.). Количество подоб-

ных операций растёт с каждым годом, в связи с общим старением населения, стремлением пациентов к высокому качеству жизни, увеличением доступности высокотехнологичных видов медицинской помощи и появлением новых методов лечения. Частота развития ИАИ варьируется от 2,5% после первичной установки имплантата до 20% при повторных ревизионных операциях [1].

Ведущими возбудителями ИАИ в травматологии и ортопедии по-прежнему остаются *Staphylococcus aureus* и *Staphylococcus epidermidis*. По данным научных публикаций частота выделения отдельных видов варьирует, но лидирующие

позиции *Staphylococcus* spp. как этиологического агента ИАИ неоспорима. По нашим данным на протяжении 12 лет наблюдения с 2011 по 2022 гг. на первом месте по частоте выделения оставался *S. aureus* — 31,3%, а на втором *S. epidermidis* — 18,6% [2]. Об аналогичных результатах сообщают и другие исследователи, меняется только соотношение видов. Так в исследовании Любимовой и соавт. ведущим возбудителем ИАИ являлись *S. epidermidis* (29,7%) с преобладанием метициллин-резистентных штаммов — 24%, на втором месте определяли *S. aureus* — 23% [3]. Аналогичные результаты опубликованы в исследовании Fröschen F. S. и соавт. — наиболее частым возбудителем ортопедической ИАИ были коагулаза-негативные стафилококки (чаще *S. epidermidis*), на долю которых пришлось около 45%, на втором месте по частоте выделения стабильно регистрировали *S. aureus* — 14% [4].

Стафилококки характеризуются способностью формировать биоплёнки на различных искусственных поверхностях и окружающих их тканях, которые представляют собой фиксированные микробные сообщества, заключённые во внеклеточные полимерные вещества, продуцируемые бактериями [5]. Основными генами стафилококков, регулирующими биоплёнкообразование, являются *hap*, *icaABCD*, *icaR*, *fmbA/B*, *clfA/B* [6]. Биоплёнки характеризуются необратимой адгезией микробных клеток к различным поверхностям или друг к другу, а также канальной структурой, регулирующей и осуществляющей высвобождение питательных веществ и антимикробных препаратов [7]. Биоплёнки, связанные с медицинскими имплантатами, представляют серьёзную угрозу для жизни и здоровья пациентов и создают дополнительную финансовую нагрузку на систему здравоохранения.

Системная антибиотикотерапия является неотъемлемой частью комплексного лечения инфекции, ассоциированной с ортопедическими имплантатами. Однако большую роль в обеспечении радикальности при хирургической обработке гнойного очага играет промывание области хирургического вмешательства после удаления инфицированных компонентов антисептиками, в том числе на основе растворов полигексанида или хлоргексидина [8].

Цель исследования / Objective

Оценить наличие генов биоплёнкообразования у метициллин-резистентных *S. aureus* и *S. epidermidis*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией, а также выполнить сравнительный анализ действия хлоргексидина и полигексанида на их биоплёнки.

Материалы и методы / Materials and methods

Выделение клинических изолятов *S. aureus* ($n=4$) и *S. epidermidis* ($n=4$) выполняли в соответствии с международными стандартами микробиологических исследований. Видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF MS с использованием системы FlexControl и программного обеспечения MBT Compass 4.1., Score $\geq 2,0$. Чувствительность к антибактериальным препаратам определяли в соответствии с EUCAST (2025, v. 15.0). В исследование включены штаммы *S. aureus* и *S. epidermidis*, устойчивые к цефокситину (зона подавления роста вокруг диска с цефокситином менее 22 мм и 27 мм соответственно), выделенные проспективно от пациентов с ортопедической инфекцией в 2025 г. Номер штамма соответствует его идентификационному номеру в системе ЛИС «Акросс-Инжири».

Молекулярно-генетические методы. Для выделения геномной ДНК проводили дополнительный лизис бактериальных клеток в присутствии 20 мг/мл лизостафина (Sigma Aldrich, USA) и 50 мг/мл лизоцима (Amresco, USA) в трис-ЭДТА буфере в течение 60 минут при 37°C. Дальнейшее выделение и очистку ДНК проводили с использованием системы автоматического выделения нуклеиновых кислот Auto-Pure S32 (Allsheng, Китай) и коммерческого набора Магно-Сорб (Амплисенс, Россия) в соответствии с протоколом производителя. Амплификацию осуществляли на приборе CFX-96 (BioRad, США) с использованием коммерческого набора БиоМастер HS-qPCR SYBR Blue (2X) (Биолабмикс, Россия). Визуализацию продуктов ПЦР осуществляли в 1% агарозном геле системой гель-документации ChemiDoc MP Imaging System (BioRad, США). Синтез олигонуклеотидов осуществлялся компанией Евроген (Россия). Олигонуклеотидные праймеры, протоколы проведения ПЦР представлены в таблице 1.

Оценка влияния антисептиков на сформированные биоплёнки. Все тестируемые штаммы метициллин-резистентных штаммов *S. aureus* (MRSA) и *S. epidermidis* (MRSE) характеризовались способностью образовывать биоплёнки и чувствительностью к тестируемому антисептику. Биоплёнки формировали в полистироловых 96-луночных плоскодонных планшетах. Для этого в лунки планшета вносили 180 мкл стерильного бульона LB с 1% глюкозы и 20 мкл взвеси суточной культуры стафилококков (0,5 по шкале МакФарланда). Через двое суток промытые, высушенные лунки обрабатывали 200 мкл 0,1% раствора полигексанида или 0,05% раствором хлоргексидина в течение 5 минут, 10 минут, 20 минут, 40 минут. Контрольные лунки обрабатывали физиологическим раствором. Деструктивное дей-

ствии антисептиков определяли путём окраски сформированных и промытых после антисептиков биоплёнок 0,1 % раствором генцианвиолета и последующим сравнением с контролем. Суммарную биомассу сформированных плёнок оценивали по оптической плотности (ОП) полученных спир-

товых экстрактов связавшегося красителя при 570 нм на спектрофотометре «Spectrostar Nano». Статистически значимое снижение ОП экстрактов красителя опытных лунок в сравнении с ОП контрольных лунок считали достаточным временем для разрешения биомассы микробной плёнки.

Таблица 1. Параметры ПЦР-реакции
Table 1. PCR reaction parameters

Ген	Последовательность праймеров 5' 3'	Параметры ПЦР	Размер ампликона, н. п.
<i>bar</i>	Прямой праймер: CCCTATATCGAAGGTGTAGAATTGCAC Обратный праймер: GCTGTTGAAGTTAATACTGTACCTGC	95°C – 3 минуты, 40 циклов: 95°C – 30 секунд; 52° – 30 секунд; 72° – 60 секунд Финальная элонгация: 72°C – 5 минут	971
<i>icaAD</i>	Прямой праймер: TATTCAATTTACAGTCGCAC Обратный праймер: GATTCTCTCCCTCTCTGCCA	95°C – 3 минуты, 35 циклов: 95°C – 30 секунд; 52° – 30 секунд; 72° – 60 секунд Финальная элонгация: 72°C – 5 минут	407
<i>icaBC</i>	Прямой праймер: GCCTATCCTTATGGCTTGA Обратный праймер: TGGAATCCGTCCTCATCTC	95°C – 3 минуты, 35 циклов: 95°C – 30 секунд; 52° – 30 секунд; 72° – 60 секунд Финальная элонгация: 72°C – 5 минут	182
<i>icaR</i>	Прямой праймер: TACTGTCCTCAATAATCCCGAA Обратный праймер: GGTACGATGGTACTACACTTGATG	95°C – 15 минут, 35 циклов: 95°C – 40 секунд; 53° – 50 секунд; 72° – 5 секунд Финальная элонгация: 72°C – 10 минут	453
<i>fnbA</i>	Прямой праймер: CACAACCAGCAAATATAG Обратный праймер: CTGTGTGGTAATCAATGTC	95°C – 5 минут, 35 циклов: 94°C – 45 секунд; 55° – 60 секунд; 72° – 50 секунд Финальная элонгация: 72°C – 4 минуты	1362
<i>fnbB</i>	Прямой праймер: GGAGAAGGAATTAAGGCG Обратный праймер: GCCGTCGCCTTGAGCGT	95°C – 5 минут, 35 циклов: 95°C – 15 секунд; 56° – 60 секунд; 72° – 60 секунд Финальная элонгация: 72°C – 3 минуты	813
<i>clfA</i>	Прямой праймер: GTAGGTACGTTAATCGGTT Обратный праймер: CTCATCAGGTTGTCAGG	95°C – 5 минут, 35 циклов: 95°C – 45 секунд; 56°C – 60 секунд; 72° – 60 секунд Финальная элонгация: 72°C – 3 минуты	1584
<i>clfB</i>	Прямой праймер: TGCAAGATCAAACCTGTTCTT Обратный праймер: TCGGTCTGTAAATAAAGGTA	95°C – 5 минут, 35 циклов: 95°C – 45 секунд; 57° – 60 секунд; 72° – 55 секунд Финальная элонгация: 72°C – 5 минуты	596

Оценка влияния антисептиков на сесильные бактерии в составе биоплёнок. После промывки в каждую лунку планшета с биоплёнкой добавляли 190 мкл среды LB и 10 мкл водного раствора резазурина (Eugen). Микропланшеты инкубировали в течение 2 часов в темноте при 37°C. Изменение цвета с синего на розовый указывает на восстановление резазурина живыми бактериальными клетками. Эффективной считали длительность экспозиции антисептика, при которой не регистрировали изменение окраски резазурина, подтверждающее угнетение метаболической активности бактерий.

Статистический анализ полученных результатов выполняли с помощью программы

GraphPad Prism 9.0 (США) с использованием t-теста. Значения $p < 0.05$ считали статистически значимыми.

Результаты / Results

У всех клинических изолятов MRSA и MRSE выявлен ген *bap* (табл. 1) и не обнаружено генов *ica*-оперона (*icaAD* и *icaBC*). Из восьми исследованных культур ген *fnbA* регистрировали только у двух штаммов MRSE.

Изоляты MRSA характеризовались наличием 3-х маркерных генов, а штаммы MRSE имели один или два маркерных гена. Визуализированы продукты амплификации маркерных генов MRSE 2641 и MRSA 6604 (Рис. 1).

Таблица 2. Гены биоплёнкообразования клинических штаммов стафилококков
Table 2. Biofilm formation genes of clinical strains of staphylococci

Ген Изолят	<i>bap</i>	<i>icaAD</i>	<i>icaBC</i>	<i>icaR</i>	<i>fnbA</i>	<i>fnbB</i>	<i>clfA</i>	<i>clfB</i>
MRSA								
7095	+	-	-	+	-	-	+	+
4095	+	-	-	-	-	-	+	+
6604	+	-	-	-	-	-	+	+
6611	+	-	-	-	-	-	+	+
MRSE								
6759	+	-	-	-	-	-	-	-
5039	+	-	-	-	+	-	-	-
2681	+	-	-	-	+	-	-	-
2641	+	-	-	-	-	-	-	-

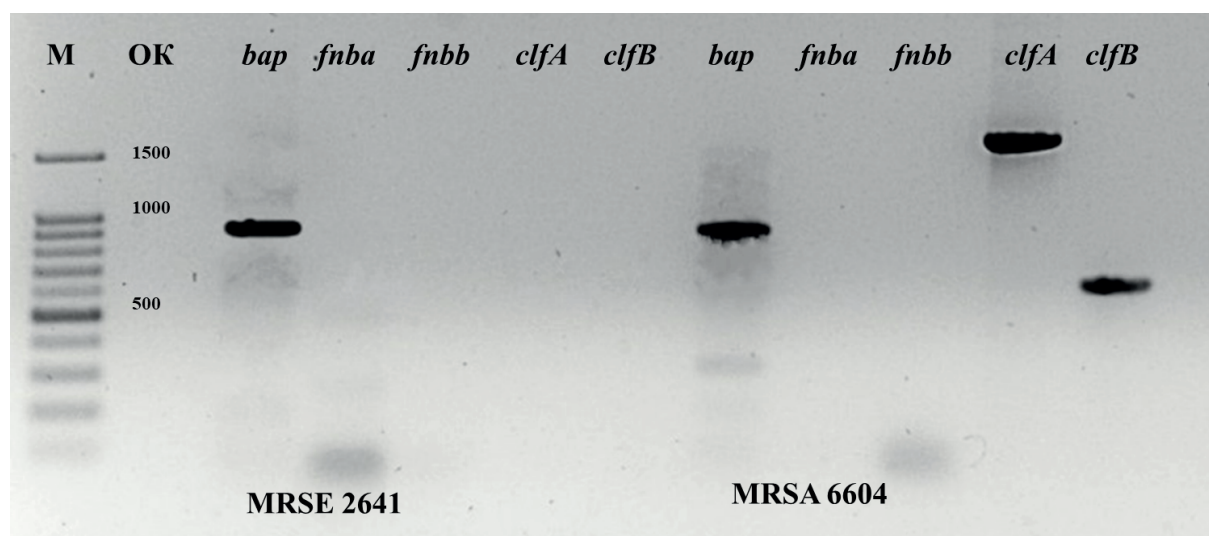


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации

Fig. 1. Electropherogram of amplification products

Примечания: М — маркер длин ДНК 100+bp; ОК — отрицательный контрольный образец.

Notes: M—DNA length marker 100+bp; OK — negative control sample.

Сравнительная оценка влияния антисептиков на биоплёнки метициллин-резистентных стафилококков показала, что полигексанид более эффективно разрушал биомассу сформированных су-

точных биоплёнок MRSA — носителей генов *bar*, *clfA* и *clfB*, в отличие от хлоргексидина (рис. 2). Полигексанид статистически значимо снижал биомассу при экспозиции более 10 минут.

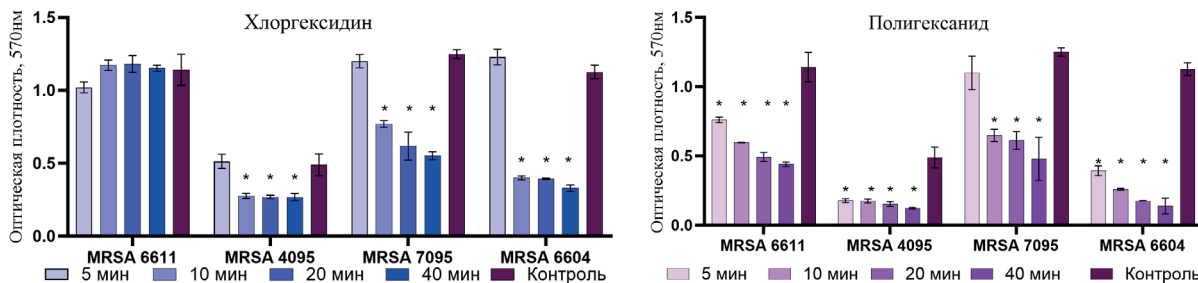


Рис. 2. Биомасса биоплёнок метициллин-резистентных *S. aureus* после экспозиции различной длительности с тестируемыми антисептиками

Fig. 2. Biomass of methicillin-resistant *S. aureus* biofilms after exposure of varying duration to the tested antiseptics

Примечание: * — $p < 0,05$.

Note: * — $p < 0,05$.

Аналогичная закономерность выявлена и при сравнительной оценке влияния хлоргексидина и полигексанида в отношении биоплёнок метициллин-резистентных *S. epidermidis* (рис. 3). Уже через 5 минут экспозиции с полигексанидом регистрировали статистически значимое снижение биомассы плёнки. В свою очередь хлоргексидин демонстрировал эффективность в отношении био-

плёнок двух тестируемых штаммов после 10 мин выдержки, а на биоплёнку штамма MRSE 2641 практически не влиял.

Изучение влияния антисептиков на sessile бактериальные клетки показало, что тестируемые препараты практически полностью уничтожали биоплёночные формы метициллин-резистентных *S. epidermidis* (табл. 3).

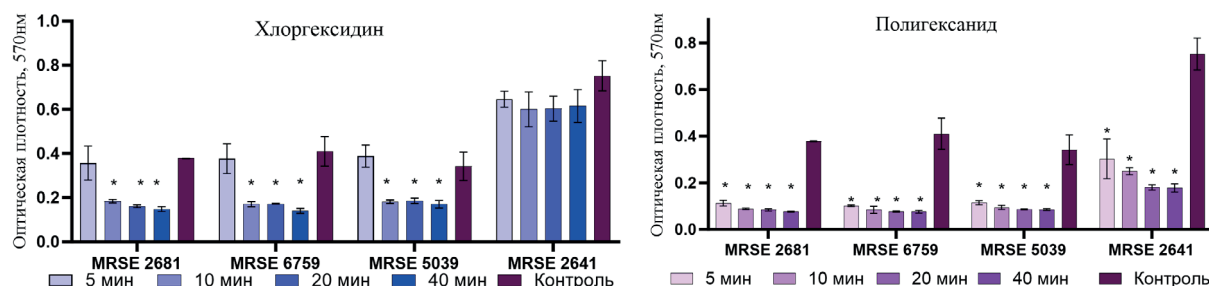


Рис. 3. Биомасса биоплёнок метициллин-резистентных *S. epidermidis* после экспозиции различной длительности с тестируемыми антисептиками

Fig. 3. Biomass of methicillin-resistant *S. epidermidis* biofilms after exposure of varying duration to the tested antiseptics

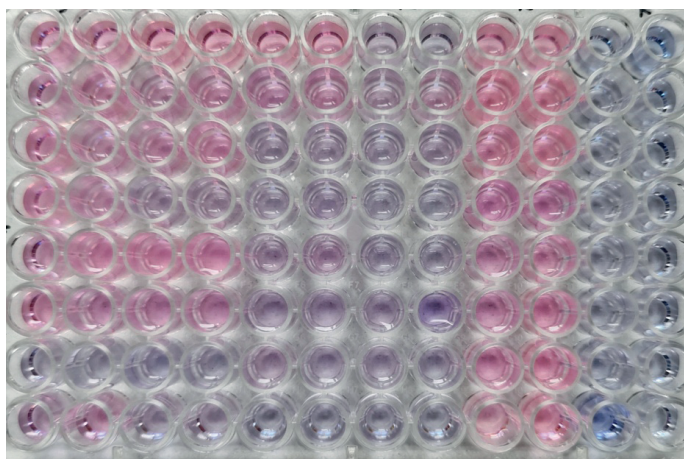
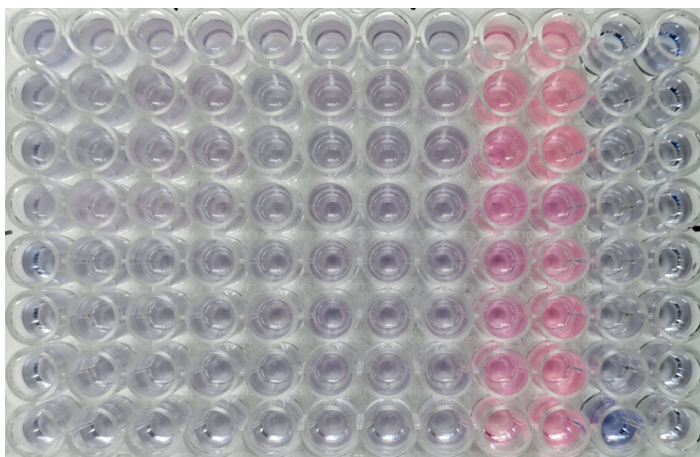
Примечание: * — $p < 0,05$.

Note: * — $p < 0,05$.

В отношении sessile клеток MRSA более эффективным был полигексанид, однако эти различия были минимальны в рамках данной выборки штаммов. Такие различия в действие антисептиков на бактерии в составе биоплёнки могут быть связа-

ны с наличием различными генов, отвечающих за биоплёнкообразование и, как следствие, различным составом матрикса, продуцируемого бактериями разных видов стафилококков.

Таблица 3. Метаболическая активность сесильных MRSA и MRSE в присутствии резазурина после обработки лунок антисептиками в течение 5, 10, 20 и 40 минут
Table 3. Metabolic activity of MRSA and MRSE in the presence of resazurin after treatment of wells with antiseptics for 5, 10, 20 and 40 minutes

Антисептик	№ штамма	5 мин	10 мин	20 мин	40 мин	K+	K -
MRSA							
0,05% раствором хлоргексидина	6611						
	4095						
	7095						
	6604						
0,1% раствор полигексанида	6611						
	4095						
	7095						
	6604						
MRSE							
0,05% раствором хлоргексидина	2681						
	6759						
	5039						
	2641						
0,1% раствор полигексанида	2681						
	6759						
	5039						
	2641						

Обсуждение / Discussion

Примерно 80% хронических инфекционных заболеваний человека связаны с существованием возбудителей в составе биоплёнок, что подчёркивает их значительное влияние на здоровье населения и систему здравоохранения [7]. Ген *bap* (biofilm-associated protein) кодирует продукцию высокомолекулярного поверхностного белка — альтернативный *icaADBC*-зависимому пути образования биоплёнок. Несмотря на то, что некоторые исследователи считают, что его распространённость у клинических изолятов *S. aureus* (включая MRSA) крайне низка [9], в нашем исследовании ген *bap* был обнаружен у всех клинических изолятов обоих видов. Кроме того, все штаммы MRSA характеризовались наличием генов *clfA* и *clfB*, что указывает на преоб-

ладание белкового компонента матрикса их биоплёнок. Напротив, в исследовании Ярец Ю. И. и соавт. у 87,5% изолятов *S. aureus*, полученных из раневого отделяемого пациентов, выявили гены оперона *ica* (*icaAD* и *icaBC*), что свидетельствует о полисахаридном составе матрикса, при этом *icaR* не был обнаружен ни у одного из изолятов [10]. У изученных нами штаммов не установлено наличие генов, связанных с *ica*-опероном, что нехарактерно для MRSA и MRSE, однако штамм MRSA 7095 имел ген *icaR*, что может указывать на утрату всего оперона. При этом все включённые в настоящее исследование штаммы характеризовались наличием способности формировать биоплёнку.

Известно, что вещества, обладающие антибиоплёночным действием, могут оказывать влияние

на различные этапы процесса формирования микробной биоплёнки и на метаболически различные фенотипы бактерии в её составе. Активные соединения могут ингибировать образование биоплёнки препятствуя бактериальной адгезии или разрушать матрикс уже сформированной биоплёнки, делая микробные клетки чувствительными к действию антибиотиков [5].

Применение хлоргексидина в медицинских учреждениях возросло за эти годы благодаря исследованиям, демонстрирующим возможные преимущества его использования для профилактики развития и лечения раневых инфекций [11]. Установлено, что хлоргексидин более активен против грамположительных бактерий, он разрушает клеточную стенку бактерий, влияя на осмотическое равновесие клетки [11]. Данный антисептик характеризуется хорошей цитосовместимостью, однако возможно развитие редких местных нежелательных реакции на его применение [12]. Вследствие широкого применения хлоргексидина растёт количество устойчивых к нему штаммов. Кроме того, в одном исследовании показана возможность развития перекрёстной устойчивости патогенов к антибиотикам [12]. В другом — авторы не обнаружили доказательств снижения фенотипической восприимчивости бактериальных изолятов к хлоргексидину через 12 мес. после его внедрения в рутинную антисептическую обработку фомитов и поверхностей [13]. *Brown JL с соавт.* показали, что хлоргексидин оказывал выраженное антибиоплёночное действие [14].

Полигексанид характеризуется широкой антибактериальной активностью и хорошей переносимостью тканями [15]. В исследовании *Palczy J.* было показано, что для лечения ран полигексанид является средством выбора из-за его высокой эффективности против биоплёнок патогенов [16].

В своей работе мы выявили различную направленность действия антисептиков на основе полигексанида и хлоргексидина в отношении метициллин-резистентных стафилококков, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией. Препарат на основе полигексанида показал более эффективное разрушение биомассы сформированных 48-часовых биоплёнок, в сравнении с хлоргексидином. В свою очередь *Santos DSF с соавт.* выполнили сравнительную оценку антимикробного действия растворов полигексанида и хлоргексидина в отношении возбудителей стоматологических инфекций и указали на более высокую активность полигексанида, в сравнении с хлоргексидином [17].

По данным научной литературы, матрикс биоплёнок стафилококков состоит из полисахаридов, белков, тейхоевых кислот и экстрацеллюлярной ДНК [18]. В зависимости от состава матрикса ста-

филококковые биоплёнки можно разделить на две категории: биоплёнки, состоящие из полисахаридного матрикса (PIA-зависимый тип биоплёнкообразования), и биоплёнки с белковым матриксом (PIA-независимый тип биоплёнкообразования) [18]. Биоплёнки с преобладанием полисахаридных компонентов чаще образуют *S. epidermidis*, с белковым матриксом — *S. aureus*. [18]. В нашем исследовании изученные клинические штаммы метициллин-резистентных *S. aureus* и *S. epidermidis* характеризовались наличием генов, характерных для PIA-независимого пути биоплёнкообразования и указывающих на преобладание белковых компонентов матрикса их биоплёнок.

В исследовании *Yi Xue с соавт.* была обнаружена корреляция между чувствительностью к хлоргексидину и наличием гена *bap* у *Staphylococcus spp.* авторы установили, что наличие *bap* у коагулазонегативных стафилококков может свидетельствовать о низкой эффективности хлоргексидина, так как носители данного гена демонстрируют толерантность к высоким дозам антисептиков, за счёт более быстрого формирования биоплёнки [19]. Это согласуется с полученными нами результатами: все протестированные клинические штаммы MRSA и MRSE несли ген *bap* и при этом хлоргексидин оказывал меньшее влияние на сформированные биоплёнки, в сравнении с полигексанидом.

Оба изученных антисептических препарата в равной степени демонстрировали выраженное антибактериальное действие против сесильных клеток MRSE в составе 48-часовых биоплёнок, однако в отношении клеток MRSA регистрировали практически полную их неэффективность при экспозициях менее 40 минут. Выявленные могут быть связаны с генетически обусловленными отличиями архитектуры построения биоплёнки разными видами стафилококков, что ограничивает проникновение препарата внутрь биоплёнки.

Заключение / Conclusion

Выполненное исследование позволило выявить основные генетические детерминанты, отвечающие за процесс биоплёнкообразования у метициллин-резистентных штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis*, выделенных от пациентов ортопедического профиля. Установленные межвидовые генетические различия могут определять эффективность антисептиков в отношении бактериальных клеток в составе зрелых биоплёнок. Полученные результаты демонстрируют необходимость экспозиции при клиническом применении изученных антисептических препаратов не менее 20 минут для достижения максимального действия на сесильные клетки стафилококков. Дальнейшие исследования должны быть сосредоточены на оптимизации времени

воздействия антисептического препарата и разработке улучшенных стратегий промывания области хирургического вмешательства, обеспечивающих

достаточное антибактериальное действие и хорошую цитосовместимость препарата в клинической практике для безопасного применения.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Финансирование

Научное исследование выполнено без дополнительного финансирования.

Участие авторов

Гордина Е. М. — литературный поиск, дизайн исследования, выполнение экспериментальных работ, оформление статьи; Шахматова А. Д. — литературный поиск, написание текста, дизайн исследования, выполнение экспериментальных работ; Касимова А. Р. — написание текста, редактирование, оформление статьи; Торопов С. С. — написание текста; Божкова С. А. — дизайн исследования, выполнение экспериментальных работ, написание текста, оформление статьи.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Гордина Екатерина Михайловна — к. м. н., старший научный сотрудник отделения профилактики и лечения раневой инфекции ФГБУ НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку

e-mail: emgordina@win.niito.ru
ORCID ID: 0000-0003-2326-7413
РИНЦ SPIN-код: 9647-8565

Шахматова Александра Дмитриевна — биолог отделения клинической фармакологии ФГБУ НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена, Санкт-Петербург, Российская Федерация

e-mail: tridakhna@list.ru
ORCID ID: 0000-0003-4879-4359
РИНЦ SPIN-код: 1271-7440

Касимова Алина Рашидовна — к. м. н., доцент, доцент кафедры клинической фармакологии и доказательной медицины, ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; врач клинический фармаколог отделения клинической фармакологии ФГБУ НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена, Санкт-Петербург, Российская Федерация

e-mail: kasi-alina@yandex.ru
ORCID ID: 0000-0001-6284-7133
РИНЦ SPIN-код: 3131-4385

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

Funding

The work was carried out without sponsorship.

Authors' participation

Gordina E. M. — literature search, research design, experimental work, article design; Shakhmatova A. D. — literature search, text writing, research design, experimental work; Kasimova A. R. — text writing, editing, article design; Toropov S. S. — text writing, Bozhkova S. A. — research design, experimental work, text writing, article design.

ABOUT THE AUTHORS

Ekaterina M. Gordina — Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher, Department of Prevention and Treatment of Wound Infection, R. R. Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

Corresponding author

e-mail: emgordina@win.niito.ru
ORCID ID: 0000-0003-2326-7413
RSCI SPIN-code: 9647-8565

Alexandra D. Shakhmatova — biologist of the Department of Clinical Pharmacology Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

e-mail: tridakhna@list.ru
ORCID ID: 0000-0003-4879-4359
RSCI SPIN-code: 1271-7440

Alina R. Kasimova — Cand. Sci. (Med.), associate professor of the department of Clinical Pharmacology and Evidence-Based Medicine Pavlov First Saint Petersburg State Medical University; Clinical pharmacologist of the Department of Clinical Pharmacology Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

e-mail: kasi-alina@yandex.ru
ORCID ID: 0000-0001-6284-7133
RSCI SPIN-code: 3131-4385

Торопов Сергей Сергеевич — врач хирург-травматолог отделения гнойной остеологии НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена, Санкт-Петербург, Российская Федерация

e-mail: dostopovss@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0002-9451-1834

РИНЦ SPIN-код: 7757-0695

Божкова Светлана Анатольевна — д. м. н., профессор, зав. научным отделением профилактики и лечения раневой инфекции и отделением клинической фармакологии, профессор кафедры травматологии и ортопедии ФГБУ НМИЦ ТО им. Р. Р. Вредена, Санкт-Петербург, Российская Федерация

e-mail: clinpharm-rniito@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0002-2083-2424

РИНЦ SPIN-код: 3086-3694

Sergey S. Toropov — surgeon-traumatologist of the Department of Purulent Osteology of Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

e-mail: dostopovss@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0002-9451-1834

RSCI SPIN-code: 7757-0695

Svetlana A. Bozhkova — MD, PhD, Head of the Scientific Department of Prevention and Treatment of Wound Infection and the Department of Clinical Pharmacology, Professor of the Department of Traumatology and Orthopedics Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russian Federation

e-mail: clinpharm-rniito@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0002-2083-2424

RSCI SPIN-code: 3086-3694

Литература/References

1. Samelis P, Papagrigorakis E, Sameli E, Mavrogenis A, Savvidou O, Koulouvaris P. Current concepts on the application, pharmacokinetics and complications of antibiotic loaded cement spacers in the treatment of prosthetic joint infections. *Cureus*. 2022;14(1):e20968. doi: 10.7759/cureus.20968.
2. Касимова А.Р., Туфанова О.С., Гордина Е.М., Гвоздецкий А.Н., Радаева К.С., Рукина А.Н., Божкова С.А., Тихилов Р.М. Двенадцатилетняя динамика спектра ведущих возбудителей ортопедической инфекции: ретроспективное исследование. *Травматология и ортопедия России*. 2024;30(1):6675. doi: 10.17816/2311290516720. [Kasimova A.R., Tufanova O.S., Gordina E.M., Gvozdetzky A.N., Radaeva K.S., Rukina A.N., Bozhkova S.A., Tikhilov R.M. Twelve-year dynamics of the spectrum of leading pathogens of orthopedic infection: a retrospective study. *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2024;30(1):6675 (in Russ.). doi: 10.17816/2311290516720.]
3. Любимова Л.В., Пчелова Н.Н., Николаев Н.С., Преображенская Е.В., Любимов Е. А. Микробиологический профиль пациентов с ортопедической имплантат-ассоциированной инфекцией в постковидном периоде. *Acta Biomedica Scientifica*. 2024;9(3):203-212. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.20 [Lyubimova L.V., Pchelova N.N., Nikolaev N.S., Preobrazhenskaya E.V., Lyubimov E.A. Microbiological profile of patients with orthopedic implant-associated infection in the post-COVID period. *Acta Biomedica Scientifica*. 2024;9(3):203-212. doi: 10.29413/ABS.2024-9.3.20 (in Russ.).]
4. Fröschen FS, Randau TM, Franz A, Molitor E, Hischebeth GTR. Microbiological profiles of patients with periprosthetic joint infection of the hip or knee. *Diagnostics (Basel)*. 2022; 12(7): 1654. doi: 10.3390/diagnostics12071654
5. François P, Schrenzel J, Götz F. Biology and Regulation of Staphylococcal Biofilm. *Int J Mol Sci*. 2023;24(6):5218. doi: 10.3390/ijms24065218.
6. Peng Q, Tang X, Dong W, Sun N, Yuan W. A Review of Biofilm Formation of *Staphylococcus aureus* and Its Regulation Mechanism. *Antibiotics (Basel)*. 2022;12(1):12. doi: 10.3390/antibiotics12010012.
7. Almatroudi A. Biofilm Resilience: Molecular Mechanisms Driving Antibiotic Resistance in Clinical Contexts. *Biology (Basel)*. 2025;14(2):165. doi: 10.3390/biology14020165.
8. Dudek B, Brożyna M, Karoluk M, Frankiewicz M, Migdał P, Szustakiewicz K, Matys T, Wiater A, Junka A. In Vitro and In Vivo Translational Insights into the Intraoperative Use of Antiseptics and Lavage Solutions Against Microorganisms Causing Orthopedic Infections. *Int J Mol Sci*. 2024;25(23):12720. doi: 10.3390/ijms252312720.
9. Tuchscher L, Löffler B, Proctor RA. Persistence of *Staphylococcus aureus*: Multiple Metabolic Pathways Impact the Expression of Virulence Factors in Small-Colony Variants (SCVs). *Front Microbiol*. 2020;11:1028. doi: 10.3389/fmicb.2020.01028.
10. Ярец Ю.И., Шевченко Н.И., Мартинков В.Н. Биологические свойства *Staphylococcus aureus* — продуцентов биоплёнки, выделенных из раневого отделяемого пациентов. *Медико-биологические проблемы жизнедеятельности*. 2021;(2):134-143. [Yarets Y.I., Shevchenko N.I., Martinkov V.N. Biological properties of *Staphylococcus aureus* — biofilm producers isolated from wound swabs from patients. *Medical and Biolog-*

- ical Problems of Life Activity*. 2021;(2):134-143. (In Russ.)].
11. Horner C, Mawer D, Wilcox M. Reduced susceptibility to chlorhexidine in staphylococci: is it increasing and does it matter? *J Antimicrob Chemother*. 2012 Nov;67(11):2547-59. doi: 10.1093/jac/dks284.
12. Van den Poel B, Saegeman V, Schuermans A. Increasing usage of chlorhexidine in health care settings: blessing or curse? A narrative review of the risk of chlorhexidine resistance and the implications for infection prevention and control. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2022;41(3):349-362. doi: 10.1007/s10096-022-04403-w.
13. Denkel LA, Kramer TS, Schwab F, Golembus J, Wolke S, Gastmeier P, Geffers C. Chlorhexidine and octenidine susceptibility of bacterial isolates from clinical samples in a three-armed cluster randomised decolonisation trial. *PLoS One*. 2022;17(12):e0278569. doi: 10.1371/journal.pone.0278569.
14. Brown JL, Townsend E, Short RD, Williams C, Woodall C, Nile CJ, Ramage G. Assessing the inflammatory response to in vitro polymicrobial wound biofilms in a skin epidermis model. *NPJ Biofilms Microbiomes*. 2022;8(1):19. doi: 10.1038/s41522-022-00286-z.
15. Brill FHH, Hambach J, Utpatel C, Mogrovejo DC, Gabriel H, Klock JH, Steinmann J, Arndt A. Bio-film reduction potential of 0.02% polyhexanide irrigation solution in several types of urethral catheters. *BMC Urol*. 2021;21(1):58. doi: 10.1186/s12894-021-00826-3.
16. Paleczny J, Junka AF, Krzyżek P, Czajkowska J, Kramer A, Benkhail H, Żyfka-Zagrodzińska E, Bartoszewicz M. Comparison of antibiofilm activity of low-concentrated hypochlorites vs polyhexanide-containing antiseptic. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023;13:1119188. doi: 10.3389/fcimb.2023.1119188.
17. Santos DSF, Peralta-Mamani M, Brandão FS, Andrade FB, Cruvinel T, Santos PSDS. Could polyhexanide and chlorine dioxide be used as an alternative to chlorhexidine? A systematic review. *Sao Paulo Med J*. 2022;140(1):42-55. doi: 10.1590/1516-3180.2020.0776.R1.18052021.
18. Uruén C, Chopo-Escuin G, Tommassen J, Mainar-Jaime RC, Arenas J. Biofilms as Promoters of Bacterial Antibiotic Resistance and Tolerance. *Antibiotics (Basel)*. 2020;10(1):3. doi: 10.3390/antibiotics10010003.
19. Xue Yi, Lo D, Chang Ch, Huang M, Chien W, Lei Ya, Su Ya, Hsu P, Lai J. Effects of the bap and eno genes on the effectiveness of disinfectants against coagulase-negative staphylococci. *Thaiwan Veterinary Journal*. 2020;46(3):56-65. doi:10.1142/S1682648520500055.