Adhesive properties of film-forming strains of staphylococci, isolated from different compartments of the human gastrointestinal tract

T. M. Shevchenko, O. Y. Hovorukha, Y. S. Voronkova, O. S. Voronkova

Oles Honchar Dnipro National University, Dnipro, Ukraine

Article info

Received 20.10.2017

Received in revised form
14.11.2017

Accepted 16.11.2017

Oles Honchar Dnipro
National University,
Gagarin Ave., 72,
Dnipro, 49010, Ukraine.
Tel.: +38-056-372-58-76
E-mail:
dnushevchenkot@gmail.com

Shevchenko, T. M., Hovorukha, O. Y., Voronkova, Y. S., & Voronkova, O. S. (2017). Adhesive properties of film-forming strains of staphylococci, isolated from different compartments of the human gastrointestinal tract. Regulatory Mechanisms in Biosystems, 8(4), 527–531. doi:10.15421/021781

Dysbiotic disorders, realized as changes in the composition of microbiota of different biotopes, are among the most difficult conditions to cure. This is due primarily to the fact that opportunistic microorganisms that actually mediate the development of such states are characterized by an increased colonization potential, which at the first stage of penetration into a biotope is realized as adhesion to the cell surface. When a microorganism successfully realises this stage it enters into a competitive relationship with the autochthonous flora and begins to inhibit its development. Such strategy becomes especially successful if the colonist has the ability to form a biofilm. It is known that the initial stage of biofilm formation is adhesion onto the surface, therefore, the study of adhesive properties of clinical strains opens the way for understanding the initial processes of development of dysbiosis and allows for the development of preventive measures. The aim of our research was to investigate the differences in the manifestation of adhesive properties of film-forming strains of staphylococci isolated from different compartments of the human gastrointestinal tract. We established that the frequency of detection of film-forming strains of staphylococci in different compartments of the gastrointestinal tract in the norm or during the development of lesions was for *Staphylococcus aureus* from 23.8% to 79.4%, and for *S. epidermidis* from 15.4% to 100%, which indicates the significant role of these microorganisms in the development of complications at the specified biotope. It was determined that the maximal manifestation of adhesive properties was typical for biofilm-forming strains of *S. epidermidis* and *S. aureus* isolated during intestinal dysbiosis. The average values of the adhesion index were 6.00 ± 1.41 and 5.88 ± 2.22 and the index of adhesion of microorganisms was 6.61 ± 1.46 and 6.64 ± 2.48 respectively. The lowest value of these indices for film-forming strains was determined for strains of staphylococci isolated from the gastrointestinal tracts of patients suffering from food poisoning – 2.60 ± 1.14 and 2.86 ± 1.23 respectively. The obtained data suggest that the ability for biofilm-formation and a high level of adhesion indexes indicate with a high probability that a strain will cause long-lasting lesions, such as dysbiosis. The determination of these markers at the diagnostic stage will allow a broader study of the biological properties of the strain, which may be the basis for the development of an individual, optimal therapeutic scheme that conforms with the tasks of personalized medicine.

Keywords: *Staphylococcus*; adhesive properties; biofilm; gastrointestinal tract; dysbiosis

Адгезивні властивості плівкотвірних штамів стафілококів, виділених із різних відділів шлунково-кишкового тракту людини

Т. М. Шевченко, О. Ю. Говоруха, Ю. С. Воронкова, О. С. Воронкова

Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара, Дніпро, Україна

Дисбіотичні порушення, що виражаються у змінах складу мікробіоти окремих біотопів, – одні з найбільш складно виліковних станів. Умовно-патогенні мікроорганізми, які власне опосередковують розвиток таких станів, відрізняються підвищеним колонізаційним потенціалом, що на першому етапі їх проникнення реалізується як адгезія до клітинної поверхні. За вдалої реалізації цього етапу мікроорганізм вступає у конкурентні відносини з автохтонною флорою та починає інгібувати її розвиток. Особливого успіху така стратегія досягає за наявності в колоніста здатності до формування біоплівки. Частота виявлення плівкотвірних штамів стафілококів у різних відділах шлунково-кишкового тракту в умовах норми та за розвитку уражень становила для *S. aureus* 23,8–79,4%, а для *S. epidermidis* – 15,4–100,0%. Максимальний прояв адгезивних властивостей типовий для біоплівкотвірних штамів епідермального та золотистого стафілококів, виділених за дисбіозу кишечника. Середні значення показника адгезії становили 6,0 і 5,9, а індексу адгезивності мікроорганізмів 6,6 і 6,7, відповідно. Найменші вказані показники для плівкотвірних штамів визначено для штамів стафілококів, виділених під час харчових отруєнь: 2,6 та 2,9, відповідно.

Ключові слова: стафілококи; адгезивні властивості; біоплівка; шлунково-кишковий тракт; дисбіоз

Вступ

Поширення стафілококових біоплівки нині доволі відома проблема біології та медицини. У першу чергу це пов'язано з тим, що у плівковій формі мікроорганізми набувають ознак посиленої стійкості до дії факторів довкілля (Hoiby et al., 2010; McKew et al., 2011; Wright et al., 2013). Крім того, плівкотвірні штами мають підвищений колонізаційний потенціал, що дозволяє їм швидко адаптуватися до практично будь-якого біотопу з витриманням конкурентного впливу автохтонних мікроорганізмів (Sannasiddappa et al., 2011). Колонізаційна здатність визначається низкою зовнішніх і внутрішніх факторів, серед яких першочергове значення звичайно мають властивості самих мікроорганізмів. Переважне значення серед різних біологічних властивостей штамів мікроорганізмів для колонізації різних біотопів організму людини мають адгезивні властивості, адже адгезія – перший процес, який власне визначає можливість колонізації поверхні та закріплення на ній (Paster et al., 2001; Nair et al., 2014; Lin et al., 2015). Посилені адгезивні властивості сприяють затриманню транзиторних мікроорганізмів і підвищенню їх виживання в умовах антагоністичних відносин та дії захисних факторів місцевого імунітету слизових оболонок (Patterson et al., 2010; Becker et al., 2014). Стафілококи у більшості мають виражені адгезивні властивості, саме тому їх розглядають як найбільш схильні до плівкотвірних процесів бактерії (Becker et al., 2014; Misawa et al., 2015). За потенціалом до утворення біоплівки вони поступаються лише псевдомонадам (Hou et al., 2012; Orazi and O'Toole, 2017). Під час первинного прикріплення до поверхні відбувається активація специфічних груп генів, що забезпечують посилений синтез екзополімеру та молекул, які здійснюють міжклітинні контакти, зокрема, триває синтез міжклітинного полісахаридного адгезину. Ці групи генів активуються лише у прикріплених форм і їх наявність унеможливає утворення біоплівки (Giaouris et al., 2015; Hobley et al., 2015). У разі реалізації вказаних подій ініціюється формування біоплівки (Archer et al., 2011; Gostev and Sidorenko, 2012; Wright et al., 2013).

Мета цієї статті – оцінити відмінності прояву адгезивних властивостей плівкотвірних штамів стафілококів, виділених із різних відділів шлунково-кишкового тракту людини.

Матеріал і методи досліджень

Для досліджень взято штами стафілококів, виділені з різних відділів шлунково-кишкового тракту людини: ротової порожнини (відбирання тампоном з ясенних карманів) та з кишечника (фекалії). Окремо досліджували групи штамів, виділені від осіб із порушеннями мікробіоти та від осіб, яких вважали здоровими.

Культури ідентифікували за результатами вивчення морфологічних, тинкторіальних та фізіолого-біохімічних ознак. Ідентифікацію отриманих штамів проводили відповідно до ознак, наведених у визначнику бактерій Берджі (Holt et al., 1994). Для виділення представників роду *Staphylococcus* проводили висівання на стафілококовий агар 110 (HiMedia, Індія) та інкубували протягом доби за температури 37 °C. Мікроскопіювали матеріал зі зрослих колоній мікроорганізмів (Labinskaia and Volina, 2008). Зі зрослих колоній кремових і жовтих відтінків відбирали матеріал, з якого виготовляли мікроскопічні препарати, які забарвлювали за Грамом. Визначаючи грампозитивні коки, зібрані у грона, культури тестували за такими ознаками: ферментація глюкози в анаеробних умовах з утворенням кислоти (позитивна), каталаза (позитивна), ріст за концентрації натрію хлориду 15% (позитивний). Варіабельні ознаки: відновлення нітратів до нітритів, наявність коагулази та продукція гемолізинів.

Здатність до плівкоутворення визначали на 96-луноквих планшетах (Медполімер, РФ). Для цього добову культуру суспендували в ізотонічному розчині NaCl (0,5%) за стандартом мутності $1 \cdot 10^8$ КУО/мл. Отриману суспензію у кількості 50 мкл вносили у лунки планшета, що містили 150–200 мкл поживного бульйону

(HiMedia, Індія). Інкубацію проводили у термостаті за температурою 37 °C 72 години. Після закінчення інкубації залишки живильного середовища обережно відбирали шприцом, а лунки промивали трічі ізотонічним розчином (0,5% NaCl). Якщо на стінках та дні лунок планшета залишалася біоплівка, штамп вважали біоплівкотвірним (Lyamin et al., 2012; Tchebotar and Guryev, 2012).

Адгезивну активність досліджених штамів стафілококів визначали за їх здатністю адсорбуватися на булакальному епітелії (Brilis et al., 1986; Kovalenko et al., 2010). Для цього штами вирощували протягом 24 год. у поживному бульйоні, після чого центрифугували 5 хв. за 6 000 об./хв. Одержану клітинну масу ресуспендували у фосфатно-сольовому буфері такого складу (г/100 мл): NaCl – 0,85, Na_2HPO_4 – 1,42 (pH 7,2). Одержували суспензію бактерій, яка містила $1,0 \cdot 10^9$ клітин/мл. Зразок булакального епітелію переносили у буфер, епітеліоцити центрифугували за 6 000 об./хв супернатант видаляли, а одержаний осад знову ресуспендували у буфері та центрифугували в такому самому режимі. Кількість клітин підраховували у камері Горяєва. Готували суспензію епітеліальних клітин у концентрації $1,0 \cdot 10^8$ клітин/мл. Одержані суспензії бактеріальних та епітеліальних клітин змішували у рівних об'ємах у мікропробірці та інкубували за температури 37 °C протягом 30 хв. Після закінчення експозиції клітини двічі промивали фосфатно-сольовим буфером протягом 5 хв за 6 000 об./хв щоб звільнити епітеліоцити від неприкріплених бактеріальних клітин. З осаду клітин готували мазки, забарвлювали за Грамом і підраховували кількість бактерій, які знаходилися на поверхні епітеліоцитів (Kovalenko et al., 2010).

Адгезію оцінювали за індексом адгезивності мікроорганізмів (IAM) за формулою:

$$\text{IAM} = \frac{\text{СПА}}{\text{КУЕ}} \cdot 100\%,$$

де IAM – індекс адгезивності мікроорганізмів (середня кількість мікробних клітин, адгезованих на одному еритроциті, що бере участь в адгезивному процесі); СПА – середній показник адгезії (середня кількість мікроорганізмів, що прикріпились до одного еритроцита, під час підрахунку не менше 50 еритроцитів); КУЕ – коефіцієнт участі еритроцитів (відсоток еритроцитів, що мають на поверхні адгезовані мікроорганізми).

Під час оцінювання критеріїв адгезії згідно з методикою при значенні IAM < 1,75 мікроорганізми вважали неадгезивними; від 1,76 до 2,50 – низькоадгезивними; від 2,51 до 4,00 – середньоадгезивними та за IAM > 4,00 – високоадгезивними.

Результати та їх обговорення

Біологічні властивості штамів стафілококів, виділених із ротової порожнини здорових осіб і осіб із пародонтитом.

Із ротової порожнини здорових осіб виділено 14 штамів стафілококів, а від осіб із пародонтитом – 51 штамп, які ідентифіковано як *S. aureus* – 1 та 27 штамів, відповідно та *S. epidermidis* – 13 та 24 штами, відповідно. Для всіх них вивчено здатність до утворення біоплівки. З ізолятів золотистих стафілококів, виділених в осіб із пародонтитом, здатністю до плівкоутворення володіли 8 (29,6%). Єдиний ізолят золотистого стафілокока, виділений від здорової особи, не проявляв здатності до утворення біоплівки.

Серед ізолятів епідермального стафілокока відсоток здатних до плівкоутворення більший: із виділених від осіб із пародонтитом 19 (79,2%) ізолятів плівкотвірні, натомість серед ізолятів епідермального стафілокока, виділених від здорових осіб, частка плівкотвірних штамів менша – 2 (15,4%). Це може свідчити на користь того, що плівкоутворення – додатковий чинник, який ускладнює патологічний процес.

Для всіх штамів стафілококів, виділених із ротової порожнини здорових осіб та від осіб із пародонтитом, досліджено прояв адгезивних властивостей (рис. 1, 2).

Єдиний штамп золотистого стафілокока, виділений у здорової особи, був неадгезивним, а решта тією чи іншою мірою мали здат-

ність до адгезії. Рівень адгезивних властивостей плівкотвірних штампів був значно вищим, ніж у неплівкотвірних. Зокрема, для штампів золотистого стафілокока, виділених в осіб із пародонтитом і здатних до утворення біоплівки, СПА склав $5,25 \pm 1,98$, а ІАМ – $5,99 \pm 2,32$ за відповідних показників неплівкотвірних штампів $1,63 \pm 1,42$ та $1,82 \pm 1,58$.

Більшість плівкотвірних штампів – 7 (87,5%) – належали до високоадгезивних і лише 1 (12,5%) – до середньоадгезивних. Серед неплівкотвірних штампів лише 2 (10,5%) належали до високоадгезивних, інші – до середньо- (2, 10,5%), низько- (12, 63,2%) або неадгезивних узагалі (3, 15,8%).

Рис. 1. СПА та ІАМ штампів *S. aureus*, виділених зі здорової ротової порожнини та з пародонтитом: БПЛ+ – плівкотвірні штами, БПЛ- – неплівкотвірні штами

Штами епідермального стафілокока, не здатні до утворення біоплівки, мали близькі показники адгезивності. Так, СПА та ІАМ штампів, виділених у здорових осіб, становили відповідно $1,73 \pm 1,49$ та $1,96 \pm 1,64$, а виділені від осіб із пародонтитом – $2,00 \pm 1,58$ та $2,26 \pm 1,76$, що вказує на підвищений рівень агресивності виділених в осіб із пародонтитом штампів. Вищі показники мали штами, здатні до утворення біоплівки: СПА та ІАМ виділених від здорових осіб штампів становили $3,50 \pm 0,71$ та $3,99 \pm 1,03$, а з пародонтитом – відповідно $4,53 \pm 2,46$ та $5,13 \pm 2,79$.

Отримані дані про мікроорганізми у зубній бляшці відповідають існуючим відомостям про склад бактерій у біоплівці, типовий для порожнини рота (Nishihara and Koseki, 2004; Paster et al., 2011; Tsarev et al., 2011).

Рис. 2. СПА та ІАМ штампів *S. epidermidis*, виділених зі здорової ротової порожнини та з пародонтитом: БПЛ+ – плівкотвірні штами, БПЛ- – неплівкотвірні штами

Біологічні властивості штампів стафілококів, виділених за дисбіозу кишечника. Стафілококи – один із найвідоміших бактеріальних збудників уражень шлунково-кишкового тракту, зокрема дисбіозів. Перебування у нижніх відділах шлунково-кишкового тракту потребує від мікроорганізму наявності виражених колонізаційних властивостей для формування пристінкової флори та реалізації конкурентних взаємодій із нормальними симбіонтами. У цьому сенсі стафілококи відрізняються значною колонізаційною ефективністю: вони здатні продукувати низку факторів, що сприяють виживанню у середовищі кишечника (Labinskaia and

Volina, 2008), їх колонізаційний потенціал може підвищуватися за рахунок адгезії та здатності формувати біоплівку (Moommeier et al., 2014). Для всіх узятих у подальше дослідження 38 штампів стафілококів проводили визначення здатності до утворення біоплівки та адгезивних властивостей. Дослідження здатності до утворення біоплівки показало, що всі чотири штами епідермального стафілокока – плівкотвірні, а зі штампів золотистого ($n = 34$) – 27 (79,4%). Значення СПА та ІАМ плівкотвірних штампів золотистого та епідермального стафілококів сягали $5,88 \pm 2,22$ і $6,64 \pm 2,48$ та $6,00 \pm 1,41$ та $6,61 \pm 1,46$, відповідно, за аналогічних показників неплівкотвірних штампів $1,43 \pm 0,98$ та $1,60 \pm 1,11$ (рис. 3).

Рис. 3. СПА та ІАМ штампів стафілококів, виділених із біологічного матеріалу від осіб із дисбіозом шлунково-кишкового тракту: БПЛ+ – плівкотвірні штами, БПЛ- – неплівкотвірні штами

Адгезивні властивості виділених штампів варіювали, але серед штампів, здатних до формування біоплівки, переважно були високоадгезивні – 25 (92,6%) штампів золотистого та всі 4 – епідермального стафілококів. Серед неплівкотвірних високі адгезивні властивості проявив лише 1 (14,3%) штамп.

Властивості стафілококів, виділених в осіб із харчовими отруєннями. Стафілококи займають значне місце у структурі харчових отруєнь, зумовлюючи важкі випадки за рахунок продукування токсинів (Labinskaia and Volina, 2008). Здатністю до утворення біоплівки володіли лише 5 штампів (23,8%) з 21.

Дослідження адгезивних властивостей дозволило встановити, що більшість штампів, виділених в осіб із харчовими отруєннями, належали до середньо- або низькоадгезивних. Із плівкотвірних 4 штами (80,0%) були середньоадгезивними, а 1 (20,0%) – низькоадгезивним. Серед неплівкотвірних середньоадгезивними були 8 (50,0%), низькоадгезивними – 5 (31,3%), неадгезивними – 2 (12,5%). Високоадгезивним виявився лише один штамп (6,3%).

Плівкотвірні штами мали дещо вищі показники СПА та ІАМ (рис. 4), які складали відповідно $2,60 \pm 1,14$ та $2,86 \pm 1,23$. Для неплівкотвірних штампів ці показники становили відповідно $1,93 \pm 1,39$ та $2,22 \pm 1,60$. Це дозволяє стверджувати, що штами, які викликають гострі ураження, мають нижчий колонізаційний потенціал порівняно з тими, що персистують в організмі хронічно.

Рис. 4. СПА та ІАМ штампів *S. aureus*, виділених із біологічного матеріалу від осіб із харчовими отруєннями: БПЛ+ – плівкотвірні штами, БПЛ- – неплівкотвірні штами

Для плівкотвірних штамів, виділених від осіб без ознак патологічного процесу, показники адгезії нижчі, як і для штамів, виділених за гострої форми ураження – харчового отруєння. Для штамів епідермального стафілокока, виділених із ротової порожнини здорових осіб, у середньому СПА становив 3,50, а ІАМ – 3,99, що відповідає рівню середньоадгезивних штамів. Неадгезивних штамів серед плівкотвірних взагалі не було, а переважали високоадгезивні (понад 75–80%). Ронотаренко et al. (2014) вказують, що адгезивними властивостями володіють практично всі штами стафілококів, виділені за патологічних станів у людини, але рівень їх адгезивних властивостей у понад 60% випадків оцінюється як середній. Частка високоадгезивних штамів складає третину або чверть від усіх плівкотвірних, що нижче за показники, отримані нами. Ці самі автори вказують, що серед штамів, виділених від назальних носіїв із числа медперсоналу (умовно-здорові особи), також переважали середньоадгезивні форми. Це збігається з отриманими нами даними про те, що від здорових осіб (зокрема, з їх ротової порожнини) виділялися середньоадгезивні штами.

Загалом, адгезивні властивості – важливий аспект вивчення біоплівкотвірних штамів мікроорганізмів, адже саме здатність до адгезії на поверхнях лежить в основі формування плівок (Naumenko and Shipitsyna, 2011). Адгезивні властивості можна розглядати як фактор конкуренції умовно-патогенних мікроорганізмів із представниками нормальної мікробіоти, оскільки вдале закріплення у біотопі дозволяє досягти певного популяційного рівня (Buharin, 2009). Прояв адгезивних властивостей залежить здебільшого від бактерії, а також може контролюватися макроорганізмом (Akinkunmi et al., 2014). З боку останнього – це реакція специфічних і неспецифічних механізмів місцевого імунітету, наприклад, секреторних антитіл, лізоциму тощо, а також за рахунок наявності на поверхні клітин структур, здатних взаємодіяти з адгезинами, наприклад, такого білка як фібрoneктин, що викликає формування плівки (Murashkin et al., 2012).

Висновки

Частота виявлення плівкотвірних штамів стафілококів у різних відділах шлунково-кишкового тракту за норми та за патологічних змін становила для *S. aureus* 23,8–79,4%, а для *S. epidermidis* – 15,4–100,0%. Максимальний прояв адгезивних властивостей типовий для штамів епідермального та золотистого стафілококів, виділених за дисбіозу кишечника. Середні значення СПА становили $6,00 \pm 1,41$ і $5,88 \pm 2,22$, ІАМ – $6,61 \pm 1,46$ і $6,64 \pm 2,48$, відповідно. Найменше значення вказаних показників для плівкотвірних штамів визначено для штамів стафілококів, виділених в осіб із харчовими отруєннями: $2,60 \pm 1,14$ та $2,86 \pm 1,23$, відповідно.

References

Akinkunmi, E. O., Adeyemi, O. I., Igbeneghu, O. A., Olaniyan, E. O., Omonisi, A. E., & Lamikanra, A. (2014). The pathogenicity of *Staphylococcus epidermidis* on the intestinal organs of rats and mice: An experimental investigation. *BMC Gastroenterology*, 14, 126.

Archer, N. K., Mazaitis, M. J., Costerton, J. W., Leid, J. G., Powers, M. E., & Shirliff, M. E. (2011). *Staphylococcus aureus* biofilms: Properties, regulation, and roles in human disease. *Virulence*, 2(5), 445–459.

Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-negative *Staphylococci*. *Clinical Microbiology Reviews*, 27(4), 870–926.

Brilis, V. I., Brilene, T. A., Lentsner, H. P., & Lentsner, A. A. (1986). Metodika izucheniya adgezivnogo protessa mikroorganizmov [Method for studying the adhesive process of microorganisms]. *Laboratoroe Delo*, 4, 210–212 (in Russian).

Buharin, O. V. (2009). Infektsiya – modelnaya sistema assotsiativnogo simbioza [Infection is a model system of associative symbiosis]. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, 1, 83–86 (in Russian).

Giaouris, E., Heir, E., Desvaux, M., Hebraud, M., Merete, T., Langsrud, S., Dougeraki, A., Nychas, G.-J., Kacaniova, M., Czaczyk, K., Olmez, H., & Simoes, M. (2015). Intra- and inter-species interactions within biofilms of important foodborne bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 6, 841.

Gostev, V. V., & Sidorenko, S. V. (2012). Bakterialnyie bioplenki i infektsii [Bacterial biofilms and infections]. *Journal of Infectology*, 2(3), 4–15 (in Russian).

Hobley, L., Harkins, C., MacPhee, C. E., & Stanley-Wall, N. R. (2015). Giving structure to the biofilm matrix: An overview of individual strategies and emerging common themes. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(5), 649–669.

Hoiby, N., Bjarnsholt, T., Givskov, M., Molin, S., & Ciofu, O. (2010). Antibiotic resistance of bacterial biofilms. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 35, 322–332.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath, P. H. A., Staley, J. T., & Williams, S. T. (Eds.). (1994). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore.

Hou, W., Sun, X., Wang, Z., & Zhang, Y. (2012). Biofilm-forming capacity of *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, and *Pseudomonas aeruginosa* from ocular infections. *Investigative Ophthalmology and Visual Science*, 53(9), 5624–5631.

Kovalenko, N. K., Livinska, O. P., Poltavskaya, O. A., Garmasheva, I. L., Shinkarenko, L. M., & Oleshchenko, L. T. (2010). Probiotichni vlastyivosti promyslovlykh shtamiv laktobatsyl i bifidobakteriy [Probiotic properties of industrial strains of lactobacilli and bifidobacteria]. *Microbiologichnyi Zhurnal*, 72(1), 9–17 (in Ukrainian).

Labinskaya, A. S., & Volina, Y. H. (Eds.). (2008). *Rukovodstvo po medicinskoj mikrobiologii. Obshaia i sanitarnaia mikrobiologia* [Manual of medical microbiology. General and sanitary microbiology]. Binom, Moscow (in Russian).

Lin, M. H., Shu, J. C., Lin, L. P., Chong, K. Y., Cheng, Y. W., Du, J. F., & Liu, S. T. (2015). Elucidating the crucial role of poly N-acetylglucosamine from *Staphylococcus aureus* in cellular adhesion and pathogenesis. *PLoS One*, 10(4), e0124216.

Lyamin, A. V., Botkin, E. A., & Zhestkov, A. V. (2012). Metody vyivayeniya bioplenok v meditsine: Vozmozhnosti i perspektivy [Methods of biofilm evaluation: Opportunities and perspectives]. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*, 14(1), 17–22 (in Russian).

McKew, B. A., Taylor, J. D., McGenity, T. J., & Underwood, G. J. (2011). Resistance and resilience of benthic biofilm communities from a temperate salt-marsh to desiccation and rewetting. *The ISME Journal*, 5, 30–41.

Misawa, Y., Kelley, K. A., Wang, X., Wang, L., Park, W. B., Birtel, J., Saslow-sky, D., & Lee, J. C. (2015). *Staphylococcus aureus* colonization of the mouse gastrointestinal tract is modulated by wall teichoic acid, capsule, and surface proteins. *PLoS Pathogens*, 11(7), e1005061.

Moormeier, D. E., Bose, J. L., Horswill, A. R., & Bayles, K. W. (2014). Temporal and stochastic control of *Staphylococcus aureus* biofilm development. *mBio*, 5(5), e01341-14.

Murashkin, N., Gluzmin, M., Skoblikov, N., Bakulev, A., Materikin, A., Gluzmina, M., & Khotko, A. (2012). Rol metitsillinezistentnykh shtammov zolotistogo stafilocokka v patogeneze tyazhelykh form atopicheskogo dermatita v detskom vozraste. Puti dostizheniya remissii [Role of MRSA strains in the pathogenesis of severe atopic dermatitis in childhood. Ways of achieving remission]. *Vestnik Dermatologii i Venerologii*, 1, 66–74 (in Russian).

Nair, N., Biswas, R., Gotz, F., & Biswas, L. (2014). Impact of *Staphylococcus aureus* on pathogenesis in polymicrobial infections. *Infection and Immunity*, 82(6), 2162–2169.

Naumenko, Z. S., & Shipitsyna, I. V. (2011). Sravnitel'naya otsenka adgezivnoy aktivnosti bakteriy, vydelennykh u bolnykh iz osteomieliticheskogo ochaga i iz ran otkrytykh perelomov [Comparative evaluation of adhesive activity of the bacteria, isolated in patients from their osteomyelitic focus, as well as from open fracture wounds]. *Orthopaedic Genius*, 4, 31–34 (in Russian).

Nishihara, T., & Koseki, T. (2004). Microbial etiology of periodontitis. *Periodontology*, 36, 14–26.

Orazi, G., & O'Toole, G. A. (2017). *Pseudomonas aeruginosa* alters *Staphylococcus aureus* sensitivity to vancomycin in a biofilm model of cystic fibrosis infection. *mBio*, 8(4), e00873-17.

Paharik, A. E., & Horswill, A. R. (2016). The staphylococcal biofilm: Adhesins, regulation, and host response. *Microbiology Spectrum*, 4(2).

Paster, B. J., Boches, S. K., Galvin, J. L., Ericson, R. E., Lau, C. N., Levanos, V. A., Sahasrabudhe, A., & Dewhirst, F. E. (2001). Bacterial diversity in human subgingival plaque. *Journal of Bacteriology*, 183(12), 3770–3783.

Patterson, J. L., Stull-Lane, A., Girerd, P. H., & Jefferson, K. K. (2010). Analysis of adherence, biofilm formation and cytotoxicity suggests a greater virulence potential of *Gardnerella vaginalis* relative to other bacterial-vaginosis-associated anaerobes. *Microbiology*, 156, 392–399.

Ponomarenko, S. V., Voronkina, I. A., Osolodchenko, T. P., Port, O. V., & Pirts-khalava, T. V. (2014). Zdattist do bioplivkotovorenniya izolyativ *S. aureus*, vydilennykh z riznykh ekologicheskikh nisht [The ability to biofilm formation isolates *S. aureus*, received by different ecological niches]. *Bulletin of Problems Biology and Medicine*, 112, 245–248 (in Ukrainian).

Sannasiddappa, T. H., Costabile, A., Gibson, G. R., & Clarke, S. R. (2011). The influence of *Staphylococcus aureus* on gut microbial ecology in an *in vitro* continuous culture human colonic model system. *PLoS One*, 6(8), e23227.

- Tshebotar, I. V., & Guryev, E. L. (2012). Laboratornaya diagnostika klinicheski znachimyih bioplyonochnyih protsessov [Laboratory diagnostics of clinically significant microbial biofilms]. *Voprosyi Diagnostiki v Pediatrii*, 4, 15–20 (in Russian).
- Tsarev, V., Trefilov, A., Kleymenova, G., & Levkin, A. (2011). Prostranstvenno-vremennaya model formirovaniya bioplyonki polosti rta: Vzaimosvyaz protsessov pervichnoy adgezii i mikrobnoy kolonizatsii [The space-time model of oral biofilm formation: The interrelation of primary adhesion and microbial colonization]. *Sovremennaya Stomatologiya*, 2, 22–27 (in Russian).
- Wright, C. J., Burns, L. H., Jack, A. A., Back, C. R., Dutton, L. C., Nobbs, A. H., Lamont, R. J., & Jenkinson, H. F. (2013). Microbial interactions in building of communities. *Molecular Oral Microbiology*, 28(2), 83–101.