

**ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ *CANDIDA SP.*
В ТЕЧЕНИЕ СУТОК МОДИФИЦИРОВАННЫМ
МАКРОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**

Николенко М.В.,

Барышникова Н.В.,

Малишевская О.И.,

Еноктаева О.В.,

Васева Е.М.

ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Россия

**A 24-HOUR *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION DYNAMICALLY
ASSESED WITH MODIFIED MACROMETRIC METHOD**

Nikolenko M.V.,

Baryshnikova N.V.,

Malishevskaya O.I.,

Enoktaeva O.V.,

Vaseva E.M.

Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation

Резюме. Целью исследования являлось изучение динамики биопленкообразования *Candida sp.* в течение суток модифицированным макрометрическим методом. Предложенный макрометрический метод решает задачи по ускорению и упрощению количественной оценки процесса биопленкообразования, увеличивает чувствительность, так как позволяет исключить ошибки, связанные с использованием полистеролового материала. Простота выполнения приведенной методики делает ее доступной для любой лаборатории. Для исследования использованы эталонные штаммы из американской коллекции типовых культур (АТСС) и клинические изоляты *Candida sp.*, выделенные из женского репродуктивного тракта при кандидозном дисбиозе. Биопленкообразование *Candida sp.* изучали по модифицированной авторами методике O'Toole G.A. с соавторами. Биологическую активность пленкообразования *Candida sp.* смотрели в течение двух суток с 4-х часовым интервалом, в зимнее время года, IV фаза луны. Использовали 48-часовую культуру грибов, что соответствовало максимальной адгезии их на поверхности стекла. Хронодизайн исследований подразумевал получение по оцениваемой функции 6-ти измерений в сутки с 3-5-ти кратным повторением условий эксперимента. Для графического представления амплитудно-фазовых характеристик изученных биоритмов использован косинор-анализ, служащий базовым методом для выявления циклических процессов в биологических системах и их моделирования. В ходе исследования доказано, способность клеток микромицетов к адгезии достоверно выше в стационарной фазе роста, чем логарифмической ($p < 0,05$). Используемый хронобиологический прием позволил выявить наличие пленкообразующей активности грибов в течение суток ($p < 0,05$) и обнаружить общие закономерности проявления свойств у представителей всех изучаемых видов. Экспериментально установлено, что последовательность и согласованность биологических свойств клинических изолятов *Candida sp.* во времени принципиально не зависят от вида гриба. В ходе исследования установлены ритмометрические маркеры патогенности штамма – это вклад

STUDYING *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION

ритма и амплитудно-фазовая характеристика. Доказано, что активность биопленкообразования увеличивается в направлении «эталонные штаммы – клинические изоляты». Критерий Манна-Уитни у *C. albicans* составил 29, *C. tropicalis* – 26, *C. krusei* – 30 ($p < 0,05$). Использование хронобиологического метода, на наш взгляд, открывает новые перспективы при изучении физиологии *Candida sp.*, так как дает возможность прогнозировать динамику состояния микроорганизма и учитывать особенности срочной и долговременной адаптации к разным факторам внешней среды. Выявление суточных ритмов биопленкообразующей активности у различных штаммов *Candida sp.*, открывает возможность управлять жизнеспособностью бактериально-грибковых ассоциаций и прогнозировать их устойчивость к различным антимикробным средствам.

Ключевые слова: биопленка, макрометрический метод, грибы рода *Candida*, кандидозный дисбиоз, ритмометрические параметры.

Abstract. The aim of the study was to study the dynamics of 24-hour *Candida spp.* biofilm formation by using a modified macrometric method. The proposed macrometric method solves the problem of accelerating and simplifying the quantitative assessment of the biofilm formation process, increases sensitivity due to allowing to avoid mistakes related to applied polystyrene material. The ease of implementing such a technique makes it accessible to any laboratory. Reference strains from the American Type Culture Collection (ATCC) and clinical isolates of *Candida spp.* isolated from the female reproductive tract with candida dysbiosis were used for the study. Biofilm formation of *Candida spp.* studied according to the O'Toole G.A. et al. method modified by us. The biological activity of *Candida sp.* biofilm formation was monitored for 48 hours with 4-hour intervals, in winter season, the IV phase of the moon. A 48-hour fungal culture corresponding to relevant maximum adhesion on glass surface was used. The study chrono-design implied obtaining 6 diurnal measurements for the function evaluated with a 3-5-

STUDYING *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION

repetits of the experimental conditions. Amplitude-phase characteristics of the studied biorhythms were graphically represented using cosinor analysis serving as the basic method to identify and model cyclic processes in biological systems. The study proved that the ability of micromycete cells to adhere is significantly higher in the stationary vs. logarithmic growth phase ($p < 0.05$). The chronobiological technique used here allowed to reveal the presence of diurnal fungal film-forming activity ($p < 0.05$) and reveal the general patterns of manifested properties in representatives of all *Candida* species examined. It has been experimentally established that the sequence and consistency of the biological properties of clinical *Candida sp.* isolates over time were not fundamentally dependent on the type of fungus. During the study, rhythmometric markers of the strain-related pathogenicity was established reflecting contribution of rhythm and the amplitude-phase characteristic. It has been proven that the activity of biofilm formation increases along the "reference strains – clinical isolates" axis. For *C. albicans* the Mann-Whitney test data was 29, for *C. tropicalis* – 26, and for *C. krusei* – 30 ($p < 0.05$). We believe that chronobiological method opens up new perspectives in the studying physiology of *Candida spp.* because it allows to dynamically predict state of microorganism and take into account features of urgent and long-term adaptation to various environmental factors. Identifying diurnal rhythms in biofilm-forming activity of various *Candida sp.* strains opens up an opportunity to control viability of bacterial-fungal associations and predict related resistance to diverse antimicrobial agents.

Keywords: biofilm, macrometric method, fungi of *Candida* genus, candida dysbiosis, rhythmometric parameters.

ВВЕДЕНИЕ

Формирование биопленочных сообществ является одной из основных стратегий выживания бактерий и грибов в той экологической нише, которую они занимают. В биопленках бактериально-грибковые микросимбиозы приобретают защиту от различных физических (УФ излучение, высушивание), химических (изменение pH, антибиотики, биоциды, поверхностно-активные вещества), биологических антимикробных факторов (фагоциты, антитела, бактериофаги, факторы естественной резистентности макроорганизма), что позволяет рассматривать биопленку как одну из форм персистенции микроорганизмов [2]. Имеются сведения, что с образованием биопленок связаны до 80% инфекционных заболеваний и множественная антибиотикорезистентность микроорганизмов [17, 18]. В ряде обзорных работ отражено значение биопленок для различных областей науки и практики, демонстрирующее возросший интерес к этой проблеме и информация о большом количестве методов изучения, культивирования и индикации биопленок *in vitro* и *in vivo* [1, 7, 22, 23, 24].

Широко используются в последние десятилетия динамические методики исследования биопленкообразования с использованием лабораторных ферментеров, аппарата Робинсона в его различных модификациях, проточный метод [12, 19]. Основным преимуществом динамических методов формирования биопленок является максимальное приближение к условиям живых систем [14]. Инновационные технические решения – использование флюоресцентной, конфокальной сканирующей лазерной и электронной микроскопии. Данные методы позволили выявить гетерогенную структуру бактериально-грибковых биопленок. Изучены гены, кодирующие белки адгезии *Candida sp.* и описаны фазы формирования биопленки: прилипания, образование межклеточного матрикса и формирования зрелой биопленки, состоящей из единичных клеток и мицелия [21, 22, 27]. В своих работах M. Al-Fattani с соавторами изучили химический состав матрицы биопленок *Candida*

30 *albicans* (*C. albicans*) и *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) [19]. Основными
31 структурными компонентами были белки, углеводы, гексозамин и фосфор.

32 В последнее время изучение биопленок в бактериально-грибковых
33 популяциях проводят методом флуоресцентной гибридизации *in situ*, который
34 позволяет определить расположение мРНК в клетках, образующих биопленки.
35 С помощью этого метода выявлены клетки-персистеры, ответственные за
36 выживание популяции при воздействии факторов различной природы [11].

37 Изучение биопленок *in vitro* имеет целый ряд ограничений D. Andes с
38 соавт. изучали образование и структуру биопленок в центральной вене крыс с
39 помощью флуоресцентной и электронной микроскопии [20].
40 Экспериментально доказано, что в пространстве, смежном с поверхностью
41 катетера, клетки *Candida sp.* плотно прилегали к внеклеточному матриксу.
42 Слой, смежный с катетером, был менее плотен. Наиболее удаленная
43 поверхность биопленки содержала единичные клетки *Candida sp.*, которые
44 были вложены в волокнистый внеклеточный материал. Подобные
45 особенности структуры биопленки *Candida sp.* характерны и для моделей *in*
46 *vitro*. Однако электронная микроскопия показала наличие клеток
47 экспериментального животного в составе матрицы биопленки [28].

48 В этой связи, предлагаемые методы выявления биопленкообразования
49 сложны, требуют специализированного оборудования, вивария, что создает в
50 реальной клинической практике сложности в выявлении биопленок и
51 создается ложное представление о низкой частоте данного биологического
52 образования.

53 Вторая группа методов основана на создании статических условий
54 культивирования микроорганизмов, которые удобны, высоко
55 производительны и наглядны. Однако научный интерес отечественных
56 исследователей к нему в последнее время значительно снизился, а
57 практическое значение так и не получило должной оценки. Авторами
58 предложен вариант модификации популярной методологии
59 биопленкообразования на пластиковой посуде в течение суток. Биоритмы

STUDYING *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION

60 обеспечивают необходимую последовательность физиологических,
61 метаболических и биохимических процессов и оптимальное соотношение ее
62 параметров в каждый момент времени [13]. С этой точки зрения
63 хронобиологический подход выступает одновременно и как
64 методологический принцип и как методический прием [4, 15].

65 ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: изучить динамику биопленкообразования
66 *Candida sp.* в течение суток модифицированным макрометрическим методом.

67 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

68 Объектом исследования служили 17 изолятов *C. albicans*, *C. tropicalis* и
69 *C. krusei*, выделенные из женского репродуктивного тракта при кандидозном
70 дисбиозе. Контроль – депонированные эталонные штаммы *Candida sp.*,
71 полученные из американской коллекции типовых культур (АТСС) *C. albicans*
72 24433, *C. tropicalis* 750, *C. krusei* 6258. Данные виды грибов выбраны в
73 качестве модели, так как в подавляющем большинстве случаев (85-90%)
74 возбудителем кандидоза является *C. albicans*, наиболее патогенный и
75 значимый в клинической практике вид. Среди остальных видов *Candida sp.*
76 клиническое значение имеют преимущественно *C. tropicalis* – 3-5%, *C. krusei*
77 – 1-3%. В последнее время увеличивается количество заболеваний, вызванных
78 именно грибами *C. non-albicans* [9].

79 Выделение и идентификацию грибов проводили по комплексу признаков:
80 внешний вид колоний, хламидоспорообразование, тест на образование
81 ростовых трубок, чувствительность к антифунгальным препаратам диско-
82 диффузионным методом, ассимиляционная способность [6].

83 В работе представлена модификация способа оценки
84 биопленкообразования, предложенного O'Toole G.A. с соавторами [27]. На
85 первом этапе исследования были получены 24-часовые культуры,
86 выращенные на питательной среде Сабуро с теллуридом (НПО «Питательные
87 среды», Махачкала) при температуре 37°C, что соответствовало началу
88 стационарной фазы развития грибов. Биопленки получали в стеклянных
89 стандартных по ГОСТу пробирках (14 мл), промытых хромовой смесью.

STUDYING *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION

90 Исходную концентрацию микроорганизмов 0,5 McFarland готовили с
91 помощью прибора для определения мутности микробной суспензии – Densi-
92 La-Meter фирмы Lachema (Чехия). Рабочую концентрацию $1,5 \times 10^3$ КОЕ/мл
93 получали титрованием культуры в физиологическом растворе, затем
94 добавляли в пробирки с бульоном Сабуро (НПО «Питательные среды»,
95 Махачкала) и инкубировали в термостате при температуре 37°C. Для удаления
96 планктонной фазы популяции производили забор содержимого из пробирок
97 пипеткой, не задевая стенок сосуда и дважды аккуратно промывали
98 дистиллированной водой. Для количественной оценки способности
99 дрожжевых грибов к пленкообразованию добавляли 2 мл генцианового
100 фиолетового в пробирку. Спустя 45 минут сливали краситель, стенки
101 пробирки многократно промывали дистиллированной водой. Для десорбции
102 красителя в органический растворитель в каждую пробирку на 15 минут
103 добавляли 2 мл 96% этилового спирта.

104 Кинетику образования биопленки изучали по изменению коэффициента
105 пропускания света и оптической плотности на спектрофотометре КФК-3-01
106 при длине волны 540 нм, измерения проводили через 24; 36; 48; 72 и 96 часов.
107 В качестве контроля применяли 96% этиловый спирт. Экстрагированный
108 этанолом из биопленки генциановый фиолетовый помещали в одноразовые
109 пластиковые кюветы макро размером 10*10*45 мм, объемом 4 мл (длина
110 оптического пути 10 мм). Температура измеряемых жидкостей
111 соответствовала комнатной температуре. Для получения статистических
112 достоверных данных эксперимент повторяли 5 раз.

113 Статистическую обработку материалов и графическое изображение
114 результатов осуществляли с использованием программ: Primer of Biostatics
115 Version 4.03 by Stanton A. Glantz 1998, Microsoft Office Excel 2010. Определяли
116 M – среднее арифметическое, δ – среднеквадратичное отклонение, m – средняя
117 ошибка среднего арифметического, данные представляли по форме $M \pm m$ или

STUDYING *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION

118 $M \pm \delta$. В случае соответствия сравниваемых выборок нормальному закону
119 распределения (по χ^2) использовали t – критерий Стьюдента.

120 На втором этапе изучали биологическую активность пленкообразования
121 *Candida sp.* в течение двух суток с 4-х часовым интервалом, в зимнее время
122 года, IV фаза Луны. Использовали 48-часовую культуру грибов, что
123 соответствовало максимальной адгезии их на поверхности стекла.
124 Хронодизайн исследований подразумевал получение по оцениваемой
125 функции 6-ти измерений в сутки с 3-5-ти кратным повторением условий
126 эксперимента. Проведено 11 экспериментов, получено 486 измерений.

127 Данные были обработаны по методу наименьших квадратов (косинор-
128 анализ) при заданной значимости достоверности, $p < 0,05$ [26]. Для каждого
129 штамма впоследствии определены основные параметры ритмов с периодами
130 $T=12$ и $T=24$ часа: мезор (M) – среднее значение гармонической кривой
131 наилучшей аппроксимации функции (косинусоиды), амплитуда ритма (A) –
132 расстояние от экстремума до мезора и акрофаза (ϕ) – момент времени
133 ожидаемого экстремума функции.

134 Непараметрическим методом статистической обработки – критерием
135 Манна-Уитни (T) сравнивали различия между несвязанными выборками (опыт
136 – контроль, музейные и госпитальные культуры). Анализируемые различия
137 считали достоверными при $p < 0,05$.

138 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

139 Все изоляты *Candida sp.* обладали характерной скоростью роста.
140 Адгезивные свойства грибов рода *Candida* зависели от фазы их развития.
141 Стеклообразная поверхность пробирки в питательной среде покрывалась
142 первичной пленкой через 12 часов культивирования. При визуальном осмотре
143 биопленки, уже через 24 часа культивирования, покрывали всю поверхность
144 стекла, контаминированного с питательной средой.

145 Экспериментально выявлено, что наиболее оптимальным временем для
146 исследования биопленкообразования является временная точка 48 часов. В

STUDYING *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION

147 этот период коэффициент пропускания света являлся самым высоким, так как
148 клеточные стенки грибов внутри биопленки максимально сорбировали
149 генциановый фиолетовый. Следовательно, способность клеток микромицетов
150 к адгезии достоверно выше в стационарной фазе роста, чем логарифмической.
151 Период культивирования 72-96 часов характеризовался снижением
152 биопленкообразования грибов, так как их клетки теряли подвижность и
153 начинали интенсивно выделять внеклеточные полимеры, образуя полимерный
154 матрикс [13]. Подобные результаты были получены Лисовской С. А., 2008 при
155 наблюдении 1-4 суточных культур с использование методики выращивания
156 биопленок на нитроцеллюлозной поверхности [10].

157 Используемый нами хронобиологический прием позволил выявить
158 наличие пленкообразующей активности грибов в течение суток ($p < 0,05$) и
159 обнаружить общие закономерности проявления свойств у представителей всех
160 изучаемых видов.

161 Суточная динамика биопленкообразования *C. albicans* характеризовалась
162 ультрадианным (около 12-часовым) вкладом ритма в утреннее – 04.00 и
163 вечернее время – 16.00. У *C. non-albicans* выявлены достоверные
164 циркадианные (околосуточные) ритмы активности адгезии к поверхности
165 стекла. Максимальные значения показателя регистрировались у *C. tropicalis* в
166 вечернее время – 17.00 – 17.23, а у *C. krusei* в ночные часы – 20.00 - 23.20.
167 Вклад ритмов формирования биопленок музейными культурами представлен
168 на рисунке 1.

169

170 **Рисунок 1. Вклад ритмов биопленкообразования музейных штаммов**
171

172

173 Наличие циркадианных ритмов в спектральном составе микроорганизмов
174 одновременно с ультрадианными гармониками указывало на усиление
175 адаптивных возможностей микроорганизмов. Среднесуточные показатели
176 биопленкообразования не превышали $1,4 \pm 0,05$, что позволило судить о низкой

STUDYING *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION

177 активности всех изучаемых культур. Аналогичные результаты получены при
178 изучении суточной динамики адгезивных свойств музейных штаммов *Candida*
179 *sp.*, адсорбированных на формализованных эритроцитах человека 0 (I)
180 группы Rh (+) [16].

181 У клинических изолятов грибов, выделенных из женского
182 репродуктивного тракта при кандидозном дисбиозе, динамика
183 биопленкообразования характеризовалась достоверными ультрадианными
184 гармониками (рисунок 2). Максимальные значения фиксировались в ранние
185 утренние часы – 03.09-04.18 и вечернее время с 18.45-20.20 часов.

186

187 **Рисунок 2. Вклад ритмов биопленкообразования клинических изолятов**
188

189

190 Ультрадианные ритмы характеризуют, напротив, вариабельность
191 периодов, что имеет важное биологическое значение, определяющее
192 устойчивость к внешним воздействиям и способность к адаптивному ответу
193 на периодические раздражители [8]. Мезор пленкообразующей активности у
194 всех изучаемых клинических изолятов составил 2.6 ± 0.01 ($p < 0.05$). Амплитуда
195 колебаний показателя выросла в 4,6 раз по сравнению с музейными штаммами.
196 Представленные результаты модифицированным макрометрическим методом
197 согласуются с данными, полученными авторами при изучении адгезии
198 микроорганизмов экспресс-методом и развернутым методом Брилиса В.И. с
199 соавт., 1986 г. [16]. Предложенной методикой доказано, что
200 последовательность и согласованность формирования пленок клиническими
201 изолятами *Candida sp.* во времени принципиально не зависят от вида гриба и
202 возможно, данный механизм адаптации закономерен и является характерным
203 признаком биологической активности дрожжевых патогенов.

204 Подход к инфекции с позиции хронобиологии расширяет представления
205 о физиологии грибов. В ходе исследования установлены ритмометрические

STUDYING *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION

206 маркеры патогенности штамма – это вклад ритма и амплитудно-фазовая
207 характеристика изучаемого свойства, которое не является стационарным и
208 дают возможность отличать патологические нарушения от
209 приспособительных изменений [3, 4, 25].

210 Анализ хронопоказателей активности пленкообразования клинических
211 изолятов и эталонных штаммов *Candida sp.* показал, что у грибов, выделенных
212 из организма человека, изменялся вклад ритма, мезор и амплитуда колебаний
213 функции повышались в направлении «эталонные штаммы – клинические
214 изоляты». Критерий Манна – Уитни у *C. albicans* составил 29, *C. tropicalis* –
215 26, *C. krusei* – 30 ($p < 0,05$).

216 Выявленная закономерность согласуется с данными
217 биопленкообразования, полученными на силиконовых моделях. Доказано
218 методами конфокальной сканирующей лазерной и электронной микроскопии,
219 что биопленки *C. albicans* состояли из слоев бластоспор с плотно лежащей
220 матрицей из полисахаридов. Биопленки *C. non-albicans* имели меньший объем,
221 чем пленки *C. albicans*, и содержат только бластоспоры, собранные в одну
222 группу. Полученные результаты свидетельствовали, что *C. albicans*
223 формирует количественно большую и структурно более сложную биопленку,
224 чем грибы *Candida non-albicans* [28]. У *C. albicans* межклеточный матрикс
225 состоял на 57,0% из глюкозы, а в биопленке *C. tropicalis* преобладал
226 гексозамин. Пленочные биологические образования у *C. albicans* легче
227 отделялись от пластмассовых поверхностей с помощью обработки ферментом
228 бета-1,3-глюканаза, чем *C. tropicalis* [5].

229 ЗАКЛЮЧЕНИЕ

230 Существование биопленок при хронических инфекциях требует
231 совершенно новых подходов к их диагностике. Предложенный
232 макрометрический метод решает задачи по ускорению и упрощению
233 количественной оценки процесса биопленкообразования, увеличивает
234 чувствительность, так как позволяет исключить ошибки, связанные с

STUDYING *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION

235 использованием полистеролового материала. Простота выполнения
236 приведенной методики делает ее доступной для любой лаборатории.

237 Использование хронобиологического метода, на наш взгляд, открывает
238 новые перспективы при изучении физиологии *Candida sp.*, так как дает
239 возможность прогнозировать динамику состояния микроорганизма и
240 учитывать особенности срочной и долговременной адаптации к разным
241 факторам внешней среды. Выявление суточных ритмов
242 биопленкообразующей активности у различных штаммов *Candida sp.*,
243 открывает возможность управлять жизнеспособностью бактериально-
244 грибковых ассоциаций и прогнозировать их устойчивость к различным
245 антимикробным средствам.

246 БЛАГОДАРНОСТИ

247 Исследование финансировалось за счет гранта Тюменского
248 государственного медицинского университета в области биомедицинских и
249 биофармацевтических технологий от 12 августа 2021 года №8210053.
250 Коллектив авторов выражает благодарность Тюменскому государственному
251 медицинскому университету за поддержку в проведении исследования.

РИСУНКИ

Рисунок 1. Вклад ритмов биопленкообразования музейных штаммов

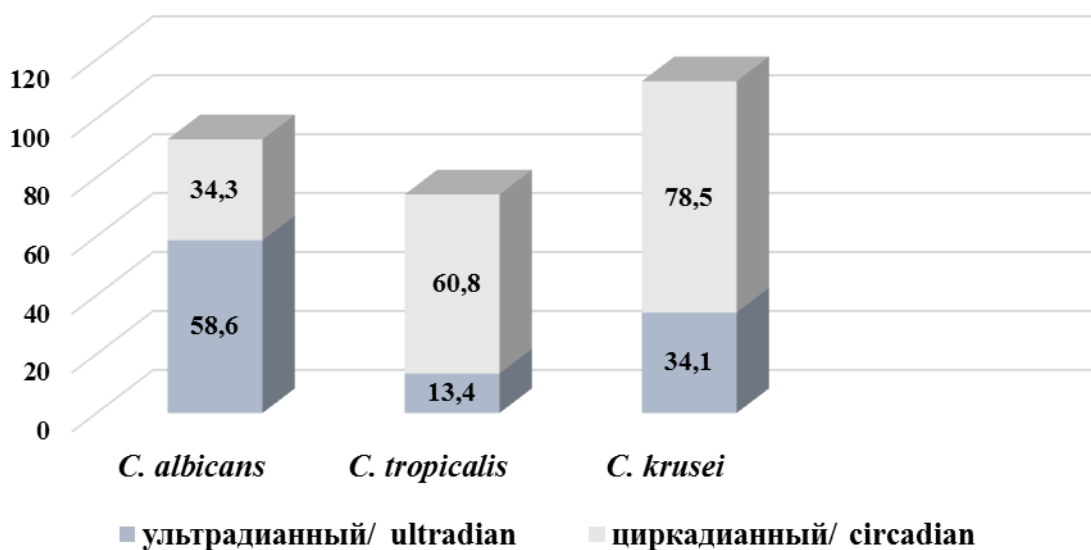
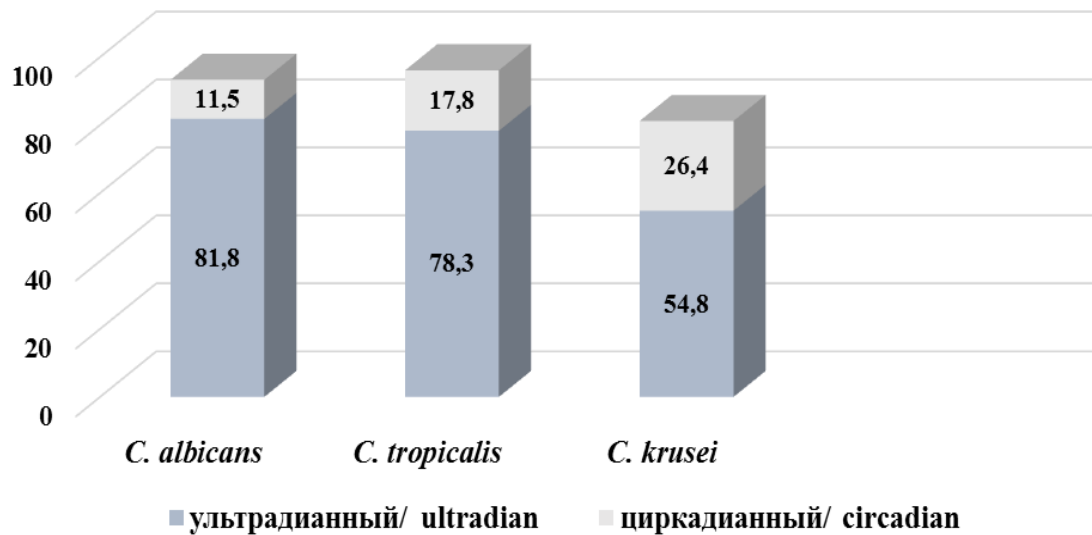
Figure 1. Contribution of biofilm formation rhythms of archival *Candida spp.* strainsПримечание: *– $p < 0.05$ Note: *– $p < 0.05$

Рисунок 2. Вклад ритмов биопленкообразования клинических изолятов**Figure 2. Contribution of biofilm formation rhythms for *Candida sp.* clinical isolates.**

Примечание: *– $p < 0.05$.

Note: *– $p < 0.05$.

ИЗУЧЕНИЕ ДИНАМИКИ БИОПЛЕНКООБРАЗОВАНИЯ *CANDIDA SP.***В ТЕЧЕНИЕ СУТОК МОДИФИЦИРОВАННЫМ
МАКРОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ****A 24-HOUR *CANDIDA SP.* BIOFILM FORMATION DYNAMICALLY
ASSESED WITH MODIFIED MACROMETRIC METHOD**

Блок 1. Информация об авторе, ответственном за переписку

Николенко Марина Викторовна, д.б.н., профессор кафедры микробиологии,
ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Россия.

Nikolenko Marina Viktorovna, D.Sc. (Biology), Professor of Microbiology
Department, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation.

Адрес для переписки, телефон, e-mail:

625023, Россия, г. Тюмень ул. Одесская д. 54.

625023, Russian Federation, Tyumen, Odesskaya str., 54.

+79058233790, nikolenko-marina@mail.ru

Блок 2. Информация об авторах

Барышникова Н.В., ассистент кафедры микробиологии, ФГБОУ ВО
Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Россия.

Baryshnikova N.V., assistant of the Department of Microbiology, Tyumen State
Medical University, Tyumen, Russian Federation.

Малишевская О.И., к.фарм.н., доцент кафедры фармацевтических
дисциплин, ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Россия.

Malishevskaya O.I., Ph.D. of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the
Department of Pharmaceutical Disciplines, Tyumen State Medical University,
Tyumen, Russian Federation.

Еноктаева О.В., ассистент кафедры биологии, ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Россия.

Enoktaeva O.V., assistant of the Department of Biology, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation.

Васева Е.М., к.фарм.н., доцент кафедры фармацевтических дисциплин, ФГБОУ ВО Тюменский ГМУ Минздрава России, Тюмень, Россия.

Vaseva E.M., Ph.D. of Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmaceutical Disciplines, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russian Federation.

Блок 3. Метаданные статьи

Ключевые слова: биопленка, макрометрический метод, грибы рода *Candida*, кандидозный дисбиоз, ритмометрические параметры.

Key words: biofilm, macrometric method, fungi of the genus *Candida*, candidal dysbiosis, rhythmometric parameters.

Сокращенное название статьи:

Изучение биопленкообразования *Candida sp.*

Studying *Candida sp.* biofilm formation

Количество страниц текста – 8, количество рисунков – 0,

количество таблиц – 2

Раздел: Оригинальная статья

Дата отправления работы: 18.04.2022

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Порядковый номер ссылки	Авторы, название публикации и источника, где она опубликована, выходные данные	ФИО, название публикации и источника на английском	Полный интернет-адрес (URL) цитируемой статьи
1	Ашофф Ю. Биологические ритмы, пер. с англ. М.: Мир, 1984. Т.1. 262 с.	Aschoff J. Biological rhythms, trans. from English. Moscow: Mir, 1984. Vol. 1. 262 p.	https://www.studmed.ru/ashoff-yu-biologicheskie-ritmy-tom-1_e08fd31cfcf.html (in Russ.)
2	Бухарин О.В. Симбиотические взаимоотношения микроорганизмов при инфекции // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2013. № 1. С. 93-97.	Bukharin O.V. Symbiotic relationships of microorganisms during infection // Journal of microbiology, epidemiology and immunobiology. 2013. No 1. pp. 93-97.	(in Russ.)
3	Губин Г.Д., А.М. Дуров, Губин Д.Г. Биоритмы, второй закон термодинамики, биологический	Gubin G.D., Durov A.M., Gubin D.G., Biorhythms, the second law of thermodynamics, biological age // Cycles of Nature and Society. 1994. Vol. 4. pp. 15-19.	(in Russ.)

	возраст // Циклы природы и общества. 1994. Т.4. С. 15-19.		
4	Губин Д.Г., Губин Г.Д. Хроном сердечно-сосудистой системы на различных этапах онтогенеза человека. Тюмень: ВекторБук, 2000. 176 с.	Gubin D.G., Gubin G.D. Chronom of cardiovascular system at different stages of ontogenesis in men. Tyumen: Vector Book, 2000. 176 p.	(in Russ.)
5	Елинов Н.П., Васильева Н.В., Степанова А.А., Чилина Г.А. Candida. Кандидозы. Лабораторная диагностика, под ред. проф. Н.П.Елинова. СПб.: Коста, 2010. 224 с.	Yelinov N.P., Vasilyeva N.V., Stepanova A.A., Chilina G.A. Candida. Candidiasis. Laboratory diagnostics, ed. N.P. Elinov. St. Petersburg: Costa, 2010. 224 p.	(in Russ.)
6	Ильина Т.С., Романова Ю.М., Гинцбург А.Л. Биопленки как способ существования бактерий в окружающей среде и организме	Irina T.S., Romanova Yu.M., Gintsburg A.L. Biofilms as a mode of existence of bacteria in external environment and host body: the phenomenon, genetic control, and regulation	(in Russ.)

	хозяина: феномен, генетический контроль и системы регуляции их развития // Генетика. 2004. Т.40, № 11. С. 1445-1456.	systems of development // Russian Journal of Genetics. 2004. Vol. 40, No.11. pp. 1445-1456.	
7	Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. Хронобиология и хрономедицина. М.: «Триада-Х», 2000. 488 с.	Komarov F.I., Rapoport S.I. Chronobiology and chronomedicine. Moscow: "Triada-X", 2000. 488 p.	https://www.studmed.ru/view/komarov-om-rapoport-si-hronobiologiya-i-hronomedicina_82216285694.html
8	Леуш С.С., Рощина Г.Ф., Полтавцева О.Ф. Особенности клинического течения и лечения различных форм урогенитального кандидоза // Український журнал дерматології, венерології, косметології. 2003. № 2 (9). С. 72-75.	Leush S.S., Roshchina G.F., Poltavtseva O.F. Clinical course and treatment of various forms of urogenital candidiasis // Ukrainian Journal of Dermatology, Venereology, Cosmetology. 2003. No.2 (9). pp. 72-75.	(in Russ.)
9	Лисовская А.М. Изучение биологических свойств <i>Candida spp.</i>	Lisovskaya A.M. A study of the biological properties of candida spp. Isolated from	(in Russ.)

	выделенных из различных локусов у лабораторных больных // Проблемы медицинской микологии. 2006. Т.8, №2. С. 34.	different loci of outpatients // Problems of Medical Mycology. 2006. Vol. 8, No.2. p. 34.	
10	Лямин А.В., Боткин Е.А., Жестков А.В. Методы выявления биоплёнок в медицине: возможности и перспективы // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2012. Т. 14, №1. С.17-22.	Lyamin A.V., Botkin E.A., Zhestkov A.V. Methods of biofilm evaluation: opportunities and perspectives // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2012. Vol. 14, No.1. pp.17-22.	https://cmac-journal.ru/publication/2012/1/cmac-2012-t14-n1-p017/cmac-2012-t14-n1-p017.pdf (in Russ.)
11	Марданова А.М., Кабанов Д.А., Рудакова Н.Л., Шарипова М.Р. Биопленки: основные методы исследования: учебно-методическое пособие. Казань: К(П)ФУ, 2016. 42 с.	Mardanova A.M., Kabanov D.A., Rudakova N.L., Sharipova M.R. Biofilms: basic research methods: teaching aid. Kazan: K(P)FU, 2016. 42 p.	https://kpfu.ru/portal/docs/F1250326711/posobie..Bioplenki..Mardanova.AM.Kabanov.D.A..Sharipova.M.R.pdf (in Russ.)
12	Николаев Ю.А., Плакунов В.К. Биопленка – «город микробов» или	Nikolaev Yu. A., Plakunov V.K. Biofilm – "City of microbes" or an analogue of	https://naukarus.com/bioplenska-gorod-mikrobov-ili

	аналог многоклеточного организма? // Микробиология. 2007. Т.76. № 2. С. 149-163.	multicellular organisms? // Microbiology. 2007. Vol. 76, No.2. pp. 149-163.	analog-mnogokletochnogo-organizma (in Russ.)
13	Окулич В.К., Кабанова А.А., Плотников Ф.В. Микробные биопленки в клинической микробиологии и антибактериальной терапии. Витебск: ВГМУ, 2017. 300 с.	Okulich V.K., Kabanova A.A., Plotnikov F.V. Microbial biofilms in clinical microbiology and antibiotic therapy. Vitebsk: VSMU, 2017. 300 p.	https://www.elib.vsmu.by/bitstream/123/12846/1/Okulich-VK_Mikrobnye_bioplenki_v_klinicheskoy_mikrobiologii_i_antibakterial%27noj_terapii_2017.pdf (in Russ.)
14	Романов Ю.А. Пространственно- временная организация биологических систем // Вестник РАМН. 2002. № 6. С. 13-18.	Romanov Yu.A. Theory of space-time organization of biological systems // Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2002. No.6. pp. 13-18.	(in Russ.)
15	Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам//	Sidorenko S.V., Tishkov V.I. Molecular basis of antibiotic resistance // Biochemistry. 2004. Vol. 44. pp. 263-306.	https://www.fbras.ru/wp-content/uploads/2017/10/sidorenko.pdf

	Биологическая химия. 2004. Т. 44. С. 263-306.		(in Russ.)
16	Тимохина Т.Х., Николенко М.В., Варницына В.В., Перунова Н.Б., Бухарин О.В. Временная организация биологических свойств <i>Candida albicans</i> // Известия Оренбургского государственного аграрного университета № 2 (30). 2011. С. 226-228.	Timokhina T.H., Nikolenko M.V., Varnitsyna V.V., Perunova N.B., Bukharin O.V. Temporary organization of biological properties of <i>Candida albicans</i> // Izvestiya Orenburg State Agrarian University. No 2 (30). 2011. pp. 226-228.	(in Russ.)
17	Чеботарь И.В. Механизмы антибиопленочного иммунитета // ВЕСТНИК РАМН. 2012. № 12. С.22-28.	Chebotar I.V. Mechanisms of antibiofilm immunity // Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2012. No.12. pp. 22-28.	https://vestnikramn.sprjournal.ru/jour/article/viewFile/232/171 (in Russ.)
18	Чеботарь И.В., Погорелов А.Г., Яшин В.А., Гурьев Е.Л. Современные технологии	Chebotar I.V., Pogorelov A.G., Yashin V.A., Guryev E.L. Modern technologies of bacterial	https://cyberleninka.ru/article/n/sovremennye-tehnologii-

	исследования бактериальных биоплёнок // Современные технологии в медицине. 2013. Т.5, №1. С. 14-20.	biofilm study // Modern technologies in Medicine. 2013. Vol. 5, No.1. pp. 14-20.	issledovaniya-bakterialnyh-bioplenuk/viewer (in Russ.)
19	Al-Fattani M., Douglas L. Penetration of Candida biofilms by antifungal agents. Antimicrob Agents Chemother, 2004; 48(9):3291-7.	-	[DOI: 10.1128/AAC.48.9.3291-3297.2004]
20	Andes D., Nett J., Oschel P. et al. Development and characterization of an in vivo central venous catheter Candida albicans biofilm model. Infect. Immun., 2004; 72(10):6023-31.	-	<ul style="list-style-type: none">[DOI: 10.1128/IAI.72.10.6023-6031.2004]
21	Bachmann S., VandeWalle K., Ramage G. et al. In vitro activity of caspofungin against <i>Candida albicans</i> biofilms. Antimicrob Agents Chemother, 2002; 46(11): 3591-6.	-	[DOI: 10.1128/AAC.46.11.3591-3596.2002]

22	Chandra J., Mukherjee P., Leidich S. et al. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. J. Dent Res., 2001; 80 (3):903-8.	-	<ul style="list-style-type: none">[DOI: 10.1177/00220345010800031101]
23	Costerton J. W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science, 1999; 284:1318-22.	-	<ul style="list-style-type: none">[DOI: 10.1126/science.284.5418.1318]
24	Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin. Microbiol. Rev., 2002; 15:167-93.	-	<ul style="list-style-type: none">[DOI: 10.1128/CMR.15.2.167-193.2002]
25	Halberg F., Cornelissen G. Consensus concerning the chromom and the addition to statistical significance of scientific signification. Biochim. Clin., 1991, Vol. 15, pp. 159-162.	-	

26	Nelson W., Tong Y.L., Lee J.K. Methods for cosinorrhythmometry. Chronobiologia, 1979, Vol. 6, N.4, pp. 305-323.	-	
27	O'Toole G., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Annu. Rev. Microbiol., 2000. N.54. pp. 49-79.	-	<ul style="list-style-type: none">• [DOI: 10.1146/annurev.micro.54.1.49]
28	Ramage G., Vande Walle K., Wickes B. et al. Standardized method for in vitro antifungal susceptibility testing of Candida albicans biofilms. Antimicrob Agents Chemother, 2001; 45(9): 2475– 9.	-	[DOI: 10.1128/AAC.45.9.2475-2479.2001]