

DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-115-119

УДК 616.98:579.841.11

Д.Н. Лучинин, Е.В. Молчанова, И.Б. Захарова, Д.В. Викторов

Анализ резистентности у *Burkholderia pseudomallei* к бензалкония хлориду и антибиотикам*ФКУЗ «Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт», Волгоград, Российская Федерация*

Цель исследования – изучение особенностей формирования устойчивости к четвертично-аммонийным соединениям у *Burkholderia pseudomallei*, а также исследование ее влияния на развитие антибиотикорезистентности. **Материалы и методы.** Исследовано 10 штаммов возбудителя мелиоидоза с типичными культурально-морфологическими свойствами. Селекцию резистентных к бензалкония хлориду вариантов осуществляли путем последовательных пассажей на плотной питательной среде с добавлением дезинфектанта в повышающихся концентрациях. Определение чувствительности к бензалкония хлориду проводили методом серийных разведений в агаре, к антибактериальным препаратам из групп сульфаниламидов, β-лактамов и тетрациклинов – диско-диффузионным методом. Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2019. Вычислялись средние арифметические значения, ошибки средних величин. Достоверность различий между параметрами определялась путем расчета t-критерия Стьюдента. **Результаты и обсуждение.** Все исходные штаммы показали схожую степень устойчивости к дезинфекционному соединению и большинство – чувствительность к протестированным антибиотикам. Культивирование штаммов *B. pseudomallei* на питательной среде с добавлением бензалкония хлорида привело к повышению устойчивости к данному дезинфектанту. Помимо этого, обнаружено повышение уровня устойчивости ко всем исследованным антибиотикам. Статистическая обработка полученных данных показала значимую корреляцию между изменением чувствительности к бензалкония хлориду и появлением невосприимчивости к амоксициллину / клавулановой кислоте и цефтазидиму. Установлено, что возбудитель мелиоидоза при естественной высокой восприимчивости к бензалкония хлориду обладает высоким потенциалом развития резистентности к данному дезинфекционному средству, что имеет практическое значение при разработке режимов дезинфекции с использованием четвертично-аммонийных соединений. Впервые показана прямая корреляционная зависимость между снижением чувствительности *B. pseudomallei* к бензалкония хлориду и появлением невосприимчивости к амоксициллину / клавулановой кислоте и цефтазидиму.

Ключевые слова: *Burkholderia pseudomallei*, мелиоидоз, устойчивость, бензалкония хлорид, антибиотики.

Корреспондирующий автор: Лучинин Дмитрий Николаевич, e-mail: luchinin.dmitrii@yandex.ru.

Для цитирования: Лучинин Д.Н., Молчанова Е.В., Захарова И.Б., Викторов Д.В. Анализ резистентности у *Burkholderia pseudomallei* к бензалкония хлориду и антибиотикам. *Проблемы особо опасных инфекций.* 2022; 3:115–119. DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-115-119
Поступила 13.05.2022. Принята к публ. 01.06.2022.

D.N. Luchinin, E.V. Molchanova, I.B. Zakharova, D.V. Viktorov

Assessment of Resistance in *Burkholderia pseudomallei* to Benzalkonium Chloride and Antibiotics*Volgograd Research Anti-Plague Institute, Volgograd, Russian Federation*

Abstract. The aim of the study was to investigate the features of resistance formation in *Burkholderia pseudomallei* to quaternary ammonium compounds, as well as to analyze its influence on the development of antibiotic resistance. **Materials and methods.** 10 strains of melioidosis causative agent with typical cultural and morphological properties have been studied. The selection of variants resistant to benzalkonium chloride was carried out by successive passages on a dense nutrient medium with the addition of a disinfectant in increasing concentrations. The determination of sensitivity to benzalkonium chloride was performed through serial dilutions in agar, to antibacterial drugs from the groups of sulfonamides, β-lactams and tetracyclines – using disk diffusion method. Statistical processing of the obtained results was conducted with the help of the Microsoft Excel 2019 software. Arithmetic mean values and errors of mean values were calculated. The significance of differences between the parameters was determined applying Student's t-test. **Results and discussion.** All parental strains showed a similar degree of resistance to the disinfectant compound and most of the strains – susceptibility to the antibiotics tested. Cultivation of *B. pseudomallei* strains on a nutrient medium with the addition of benzalkonium chloride led to an increase in resistance to this disinfectant. In addition, an increase in the level of resistance to all studied antibiotics was found. Statistical processing of the data collected revealed a significant correlation between the change in sensitivity to benzalkonium chloride and the emergence of resistance to amoxicillin/clavulanic acid and ceftazidime. It was found that the causative agent of melioidosis, with a natural high susceptibility to benzalkonium chloride, has a high potential for developing resistance to this disinfectant compound, which is of practical importance in the development of disinfection regimens using quaternary ammonium compounds. For the first time, a direct correlation between a decrease in the sensitivity to benzalkonium chloride in *B. pseudomallei* and emergence of resistance to amoxicillin/clavulonic acid and ceftazidime has been demonstrated.

Key words: *Burkholderia pseudomallei*, melioidosis, resistance, benzalkonium chloride, antibiotics.

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Corresponding author: Dmitry N. Luchinin, e-mail: luchinin.dmitrii@yandex.ru.

Citation: Luchinin D.N., Molchanova E.V., Zakharova I.B., Viktorov D.V. Assessment of Resistance in *Burkholderia pseudomallei* to Benzalkonium Chloride and Antibiotics. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]*. 2022; 3:115–119. (In Russian). DOI: 10.21055/0370-1069-2022-3-115-119.

Received 13.05.2022. Accepted 01.06.2022.

Luchinin D.N., ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6784-9648>
Molchanova E.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3722-8159>

Zakharova I.B., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7808-7658>
Viktorov D.V., ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2722-7948>

Мелиоидоз – опасное инфекционное заболевание, возбудителем которого является *Burkholderia pseudomallei*. Будучи сапрофитом, патоген обитает в воде и почве климатических поясов с тропическим и субтропическим климатом [1]. Мелиоидоз считается эндемичным для стран Юго-Восточной Азии, Центральной и Южной Америки, Африки, Ближнего Востока, островов Карибского архипелага, а также Австралии, Индии и Китая. По оценкам специалистов, число ежегодных случаев заболевания может достигать 165 тыс., а летальность – 60 % [2–5].

В последнее время интерес к мелиоидозу возрос в связи с регулярными заносами инфекции в страны умеренного климата больными людьми и животными. Так, спорадические случаи описаны в Великобритании, Финляндии, Германии, Франции, Италии, США и целом ряде других стран [5–9].

В настоящее время значительная часть дезинфекционных средств (ДС), разрешенных к применению на территории Российской Федерации, представляют собой композиции на основе четвертично-аммонийных соединений (ЧАС). Наряду с широким спектром противомикробного действия, данные препараты обладают достаточно низким уровнем токсичности и коррозионной активности [10]. Однако появляется все больше сведений о формировании у микроорганизмов устойчивости к ЧАС, в том числе и у представителей рода *Burkholderia* [11, 12]. Более того, для многих возбудителей инфекционных болезней определена положительная корреляционная зависимость между наличием устойчивости к дезинфектантам и антибиотикорезистентностью [13]. Исследование особенностей формирования резистентности к различным антисептическим и дезинфицирующим агентам является важным направлением в изучении *B. pseudomallei* и представляет перспективу для решения таких научно-практических задач, как подбор наиболее эффективных режимов и средств химической дезинфекции, в том числе для предупреждения формирования антибиотикорезистентности.

Таким образом, целью работы являлось изучение особенностей формирования устойчивости к ЧАС у *B. pseudomallei*, а также исследование ее влияния на развитие антибиотикорезистентности.

Материалы и методы

В работе использованы 10 штаммов возбудителя мелиоидоза: *B. pseudomallei* 1, *B. pseudomallei* 97, *B. pseudomallei* 100, *B. pseudomallei* 101, *B. pseudomallei* 114, *B. pseudomallei* 116, *B. pseudomallei* 117, *B. pseudomallei* 128, *B. pseudomallei* 134, *B. pseudo-*

mallei 60806. Все штаммы обладали типичными биохимическими, морфологическими, тинкториальными и культуральными свойствами. Культивирование проводили при температуре 37 °С в течение 18–72 часов на агаре Мюллера – Хинтона (Himedia, Индия).

В качестве ДС использовался бензалкония хлорид (БХ) (Sigma-Aldrich, США). Определение антибиотикорезистентности проводилось к основным препаратам, рекомендованным для лечения мелиоидоза [1] (цефтазидим, меропенем, триметоприм/сульфаметоксазол, амоксициллин/клавулановая кислота и доксициклин).

Чувствительность к БХ оценивали методом серийных разведений в агаре. Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом.

Для селекции резистентных вариантов штаммы возбудителя пассировали на плотной питательной среде с добавлением БХ в повышающихся концентрациях. Исследуемую культуру рассеивали до изолированных колоний на агаре Мюллера – Хинтона с добавлением ингибирующего агента в количестве, равном минимальной подавляющей концентрации (МПК), и инкубировали при температуре 37 °С 48–72 часа. Выросшие клоны пересевали на плотную питательную среду с добавлением дезинфектанта в возрастающей концентрации.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с помощью компьютерной программы Microsoft Excel 2019. Вычислялись средние арифметические значения, ошибки средних величин. Достоверность различий между параметрами определялась путем расчета t-критерия Стьюдента. Для проверки гипотезы о нормальном распределении полученных экспериментальных данных использовался критерий Шапиро – Уилка. Корреляционный анализ проводился с применением метода ранговой корреляции Спирмена.

Результаты и обсуждение

Определение исходной чувствительности исследованных штаммов к БХ показало наличие статистически достоверных ($p \leq 0,05$) межштаммовых отличий в уровне восприимчивости к действию ДС. Все исследованные штаммы были чувствительны к использованному антибактериальным препаратам, за исключением устойчивого к цефтазидиму *B. pseudomallei* 100 (табл. 1). Полученные значения зон задержки роста соответствуют данным антибиотикочувствительности клинических штаммов возбудителя, выделенных в эндемичных по мелиоидозу Таиланде и Малайзии [14, 15].

Таблица 1 / Table 1

Характеристика исходной чувствительности штаммов возбудителя мелиоидоза к антибактериальным соединениям

Characteristics of the initial sensitivity to antibacterial compounds in melioidosis agent strains

Штамм Strain	МПК для БХ, мкг/мл (M±m) MIC for BC, mcg/ml (M±m)	Зона задержки роста, мм (M±m) Growth inhibition zone, mm (M±m)				
		Амоксициллин / клавулановая кислота Amoxicillin / clavulanic acid	Доксициклин Doxycycline	Меропенем Meropenem	Триметоприм/ сульфаметоксазол Trimethoprim/ sulfamethoxazole	Цефтазидим Ceftazidime
<i>B. pseudomallei</i> 1	11±1,1	26,4±0,4	20,6±0,9	33,4±0,68	36,2±0,73	30,8±0,97
<i>B. pseudomallei</i> 97	32±1,0	32,2±0,9	22,2±0,7	30,0±0,71	36,8±0,37	27,8±0,73
<i>B. pseudomallei</i> 100	20,4±1,1	26±0,7	21,8±0,7	31,8±0,73	34,0±0,84	16,2±0,73
<i>B. pseudomallei</i> 101	20,4±0,4	30,4±0,8	22,0±0,5	36,0±0,63	32,4±0,51	32,4±0,68
<i>B. pseudomallei</i> 114	19,6±1,0	26,2±0,4	22,6±0,6	36,2±0,37	31,8±0,92	28,4±0,51
<i>B. pseudomallei</i> 116	20,8±1,0	26±0,6	17,6±0,6	29,8±0,49	25,8±0,80	28,8±0,80
<i>B. pseudomallei</i> 117	32,0±1,8	24±0,7	20,2±0,7	29,4±0,75	31,6±0,40	21,4±0,51
<i>B. pseudomallei</i> 128	28,2±1,3	24,8±0,7	14,4±0,7	28,0±0,55	32,2±0,37	32,0±0,71
<i>B. pseudomallei</i> 134	20,8±1,1	24,8±0,5	14,6±0,5	25,8±0,66	29,4±0,75	21,8±0,80
<i>B. pseudomallei</i> 60806	19,6±1,7	28±0,7	22,6±0,5	30,6±0,40	40,2±0,66	21,6±0,81

Примечание: МПК – минимальная подавляющая концентрация; бензалкония хлорид.

Note: MIC – minimum inhibitory concentration; BC – benzalkonium chloride.

После длительных пассажей на плотных питательных средах с добавлением ДС в повышающихся концентрациях наблюдали статистически значимое ($p \leq 0,05$) увеличение МПК бензалкония хлорида для всех штаммов от 6,2 до 19,7 раза (табл. 2, рисунок).

Способность различных видов патогенных бактерий формировать устойчивость к четвертично-аммонийным соединениям известна достаточно давно [16, 17] при наличии значительных межвидовых различий в восприимчивости, в частности, к бензалкония хлориду. Так, сальмонеллы значительно более

устойчивы к данному биоциду в сравнении с кишечной палочкой (МПК 128–256 мкг/мл и 32–64 мкг/мл соответственно) [18]. Филогенетически близкие возбудителю мелиоидоза оппортунистические буркхольдерии комплекса *B. ceracia* обладают высоким уровнем устойчивости к биоцидам группы ЧАС: показано, что средняя МПК бензалкония хлорида составляет 164 мкг/мл [19], что на порядок выше значений МПК, полученных в настоящей работе для исходных штаммов *B. pseudomallei*, – и сравнимы со значениями для пассированных штаммов.

Таблица 2 / Table 2

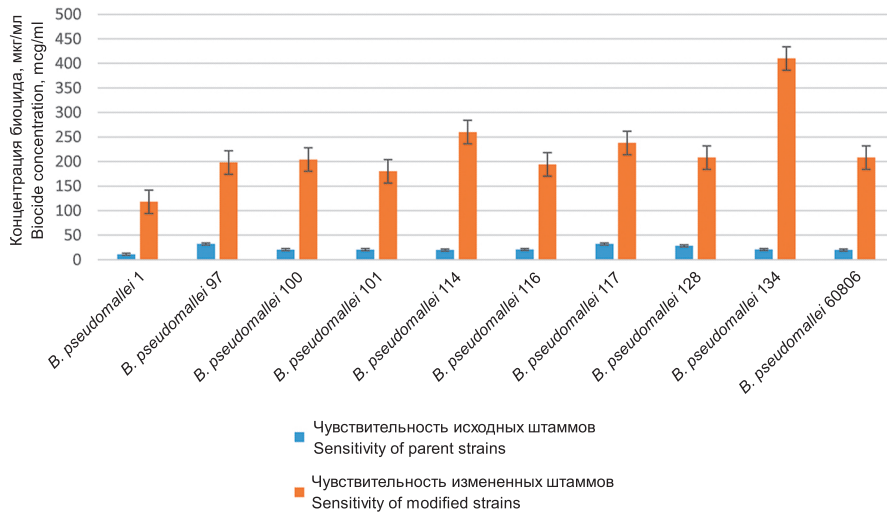
Чувствительность измененных штаммов возбудителей мелиоидоза к действию бензалкония хлорида и антибиотиков

Sensitivity to the effect of benzalkonium chloride and antibiotics in the modified strains of melioidosis agents

Штамм Strain	МПК для БХ, мкг/мл (M±m) MIC for BC, mcg/ml (M±m)	Зона задержки роста, мм (M±m) Growth inhibition zone, mm (M±m)				
		Амоксициллин / клавулановая кислота Amoxicillin / clavulanic acid	Доксициклин Doxycycline	Меропенем Meropenem	Триметоприм/ сульфаметоксазол Trimethoprim/ sulfamethoxazole	Цефтазидим Ceftazidime
<i>B. pseudomallei</i> 1	118±15,9	25,0±0,63	19,8±0,66	26,8±0,49	34,8±0,37	22,8±0,73
<i>B. pseudomallei</i> 97	198±20,6	31,4±0,40	20,0±0,32	26,0±0,71	35,4±0,51	25,6±0,93
<i>B. pseudomallei</i> 100	204±16,0	19,8±0,73	8,2±0,37	18,0±0,71	30,2±0,86	15,0±1,05
<i>B. pseudomallei</i> 101	180±15,2	28,0±0,71	14,0±0,71	19,4±0,51	32,0±0,84	25,4±1,12
<i>B. pseudomallei</i> 114	260±14,1	22,0±0,63	12,4±0,68	25,8±0,73	29,2±0,97	15,6±0,75
<i>B. pseudomallei</i> 116	194±9,3	21,6±0,51	0,4±0,24	17,4±0,51	19,6±0,98	13,4±0,60
<i>B. pseudomallei</i> 117	238±13,9	23,6±0,68	14,0±0,55	25,2±0,58	26,2±0,92	17,6±0,40
<i>B. pseudomallei</i> 128	208±12,0	23,6±0,51	13,4±0,87	25,6±0,68	26,6±0,03	22,4±0,40
<i>B. pseudomallei</i> 134	410±18,1	16,4±0,68	10,2±0,37	22,4±0,51	22,6±0,24	1,0±0,45
<i>B. pseudomallei</i> 60806	208±18,3	25,6±0,40	14,8±0,37	26,2±0,49	29,0±0,45	16,8±0,37

Примечание: МПК – минимальная подавляющая концентрация; бензалкония хлорид.

Note: MIC – minimum inhibitory concentration; BC – benzalkonium chloride.



Изменение чувствительности штаммов возбудителя мелиоидоза к действию бензалкония хлорида

Change in the sensitivity to the effect of benzalkonium chloride in melioidosis agent strains

Анализ резистентности к лекарственным препаратам штаммов с повышенной устойчивостью к бензалкония хлориду показал повышение уровня устойчивости ко всем исследованным антибиотикам: к доксициклину – в среднем на 36 %, цефтазидиму – на 33 %, меропенему – на 24 %, амоксициллину / клавулановой кислоте и триметоприму/сульфаметоксазолу – на 12 и 14 % соответственно (табл. 2). При этом два штамма (*B. pseudomallei* 100 и *B. pseudomallei* 116) приобрели полирезистентность (к доксициклину, меропенему и цефтазидиму).

Изоляты возбудителя мелиоидоза могут обладать устойчивостью к действию различных лекарственных препаратов [14, 20]. Более того, у штаммов *B. pseudomallei* возможно формирование полирезистентности из-за различных неблагоприятных факторов, таких как воздействие антибиотиков, недостаток питательных веществ [21]. Данные, полученные в настоящей работе, свидетельствуют, что воздействие четвертично-аммонийных соединений также может опосредовать развитие антибиотикорезистентности и приводить к появлению полирезистентных штаммов *B. pseudomallei*.

Для контроля стабильности приобретенной устойчивости к БХ и лекарственным препаратам полученные варианты штаммов *B. pseudomallei* подвергали последовательным пассажам (n=45) на плотных питательных средах без селективного давления. Уровни резистентности ко всем исследованным антибактериальным средствам у полученных селективных штаммов остались неизменными.

Статистическая обработка полученных экспериментальных данных показала значимую корреляцию между изменением чувствительности к БХ и появлением невосприимчивости к двум антибиотикам. Так, выявлена высокая линейная корреляционная зависимость для амоксициллина / клавулановой кислоты ($r=0,85$) и цефтазида ($r=0,86$). При этом статистически достоверной связи между повышением устойчивости к дезинфектанту и доксициклину ($r=-0,09$), меропенему ($r=-0,09$) и триметоприму/сульфаметоксазолу ($r=0,31$) не обнаружено. Полученные результаты соответствуют ранее опубликованным дан-

ными об отсутствии очевидной корреляции между устойчивостью к антибиотикам и устойчивостью к биоцидам среди бактерий комплекса *B. ceracia* [19].

Таким образом, установлено, что возбудитель мелиоидоза при естественной высокой восприимчивости к бензалкония хлориду обладает высоким потенциалом развития резистентности к данному ДС, что имеет практическое значение при разработке режимов дезинфекции с использованием ЧАС. Впервые показана прямая корреляционная зависимость между снижением чувствительности *B. pseudomallei* к бензалкония хлориду и появлением невосприимчивости к амоксициллину / клавулановой кислоте и цефтазидиму.

Конфликт интересов. Авторы подтверждают отсутствие конфликта финансовых/нефинансовых интересов, связанных с написанием статьи.

Список литературы

1. Захарова И.Б., Топорков А.В., Викторов Д.В. Мелиоидоз в аспектах эпидемиологии, клиники и лабораторной диагностики. *Инфекция и иммунитет*. 2021; 11(3):409–22. DOI: 10.15789/2220-7619-MIA-1584.
2. Chakravorty A., Heath C.H. Melioidosis: An updated review. *Aust. J. Gen. Pract.* 2019; 48(5):327–32. DOI: 10.31128/AJGP-04-18-4558.
3. Chewapreecha C., Holden M.T., Vehkala M., Välimäki N., Yang Z., Harris S.R., Mather A.E., Tuanyok A., De Smet B., Le Hello S., Bizet C., Mayo M., Wuthiekanun V., Limmathurotsakul D., Phetsouvanh R., Spratt B.G., Corander J., Keim P., Dougan G., Dance D.A., Currie B.J., Parkhill J., Peacock S.J. Global and regional dissemination and evolution of *Burkholderia pseudomallei*. *Nat. Microbiol.* 2017; 2:16263. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.263.
4. Limmathurotsakul D., Golding N., Dance D.A., Messina J.P., Pigott D.M., Moyes C.L., Rolim D.B., Bertherat E., Day N.P., Peacock S.J., Hay S.I. Predicted global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and burden of melioidosis. *Nat. Microbiol.* 2016; 1(1):15008. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2015.8.
5. Захарова И.Б., Топорков А.В., Викторов Д.В. Мелиоидоз и сип: современное состояние проблемы и актуальные вопросы эпидемиологического надзора. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2018; 6:103–9. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-103-109.
6. Топорков А.В., редактор. Мелиоидоз и сип. Волгоград: Волга-Пресс; 2016. 400 с.
7. Ngauy V., Lemeshev Y., Sadkowski L., Crawford G. Cutaneous melioidosis in a man who was taken as a prisoner of war by the Japanese during World War II. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(2):970–2. DOI: 10.1128/JCM.43.2.970-972.2005.
8. Berger S. Melioidosis and Glanders: Global Status. 2018 edition. GIDEON Informatics, Inc., Los Angeles, California, USA; 2018. 99 p.
9. Elschner M.C., Hnizdo J., Stamm I., El-Adawy H., Mertens K., Melzer F. Isolation of the highly pathogenic and zoonotic agent *Burkholderia pseudomallei* from a pet green Iguana in Prague, Czech

Republic. *BMC Vet. Res.* 2014; 10:283. DOI: 10.1186/s12917-014-0283-7.

10. Канищев В.В., Морозов А.С., Лакомов В.П., Омеляненко С.Р., Бухаева Ю.В., Трошев П.Г., Муравьев А.Г. Использование зарегистрированных в России дезинфицирующих средств войсками РХБ защиты в чрезвычайных ситуациях биологического характера. *Вестник войск РХБ защиты.* 2018; 2(4):57–67.

11. Health Council of the Netherlands. Resistance due to disinfectants. Background report to the advisory report *Careful use of disinfectants*. The Hague: Health Council of the Netherlands, 2016; publication No. A16/03E. [Электронный ресурс]. URL: <https://www.healthcouncil.nl/binaries/healthcouncil/documenten/advisory-reports/2016/12/21/resistance-due-to-disinfectants-background-report/advisory-report-resistance-due-to-disinfectants.pdf>.

12. Ahn Y., Kim J.M., Kweon O., Kim S.J., Jones R.C., Woodling K., Gamboa da Costa G., LiPuma J.J., Hussong D., Marasa B.S., Cerniglia C.E. Intrinsic resistance of *Burkholderia cepacia* complex to benzalkonium chloride. *mBio.* 2016; 7(6):e01716-16. DOI: 10.1128/mBio.01716-16.

13. Chacón-Jiménez L., Rojas-Jiménez K. Resistencia a desinfectantes y su relación con la resistencia a los antibióticos. *Acta Médica Costarricense.* 2020; 62(1):7–12.

14. Wuthiekanun V., Amornchai P., Saiprom N., Chantratita N., Chierakul W., Koh G.C., Chaowagul W., Day N.P., Limmathurotsakul D., Peacock S.J. Survey of antimicrobial resistance in clinical *Burkholderia pseudomallei* isolates over two decades in Northeast Thailand. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011; 55(11):5388–91. DOI: 10.1128/AAC.05517-11.

15. Khosravi Y., Vellamy K.M., Mariappan V., Ng S.L., Vadivelu J. Antimicrobial susceptibility and genetic characterisation of *Burkholderia pseudomallei* isolated from Malaysian patients. *ScientificWorldJournal.* 2014; 2014:132971. DOI: 10.1155/2014/132971.

16. Сергеев В.И., Клюкина Т.В., Волкова Э.О., Решетникова Н.И., Ключарева Н.М. Формирование устойчивости *Enterobacter cloacae* и *Pseudomonas aerogenosa* к дезинфектантам под воздействием бактерицидных концентраций препаратов в эксперименте. *Медицинский альманах.* 2015; 5(40):112–5.

17. Шкарин В.В., Ковалишена О.В., Благодарова А.С., Воробьева О.Н., Алексеева И.Г., Яковлева Е.И., Бугрова М.Л. Формирование устойчивости бактерий к четвертичным аммониевым соединениям в экспериментальных условиях. *Медицинский альманах.* 2012; 3(22):129–33.

18. Aarestrup F.M., Hasman H. Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. *Vet. Microbiol.* 2004; 100(1–2):83–9. DOI: 10.1016/j.vetmic.2004.01.013.

19. Rose H., Baldwin A., Dowson C.G., Mahenthiralingam E. Biocide susceptibility of the *Burkholderia cepacia* complex. *J. Antimicrob. Chemother.* 2009; 63(3):502–10. DOI: 10.1093/jac/dkn540.

20. Jenney A.W., Lum G., Fisher D.A., Currie B.J. Antibiotic susceptibility of *Burkholderia pseudomallei* from tropical northern Australia and implications for therapy of melioidosis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2001; 17(2):109–13. DOI: 10.1016/S0924-8579(00)00334-4.

21. Anutrakunchai C., Bolscher J., Krom B.P., Kanthawong S., Chareonsudjai S., Taweechaisupapong S. Impact of nutritional stress on drug susceptibility and biofilm structures of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia thailandensis* grown in static and microfluidic systems. *PLoS One.* 2018; 13(3):e0194946. DOI: 10.1371/journal.pone.0194946.

References

1. Zakharova I.B., Toporkov A.V., Viktorov D.V. [Melioidosis in aspects of epidemiology, clinical picture and laboratory diagnostics]. *Infektsiya i Immunitet [Infection and Immunity]*. 2021; 11(3):409–22. DOI: 10.15789/2220-7619-MIA-1584.

2. Chakravorty A., Heath C.H. Melioidosis: An updated review. *Aust. J. Gen. Pract.* 2019; 48(5):327–32. DOI: 10.31128/AJGP-04-18-4558.

3. Chewapreecha C., Holden M.T., Vehkala M., Välimäki N., Yang Z., Harris S.R., Mather A.E., Tuanyok A., De Smet B., Le Hello S., Bizet C., Mayo M., Wuthiekanun V., Limmathurotsakul D., Phetsouvanh R., Spratt B.G., Corander J., Keim P., Dougan G., Dance D.A., Currie B.J., Parkhill J., Peacock S.J. Global and regional dissemination and evolution of *Burkholderia pseudomallei*. *Nat. Microbiol.* 2017; 2:16263. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.263.

4. Limmathurotsakul D., Golding N., Dance D.A., Messina J.P., Pigott D.M., Moyes C.L., Rolim D.B., Bertherat E., Day N.P., Peacock S.J., Hay S.I. Predicted global distribution of *Burkholderia pseudomallei* and burden of melioidosis. *Nat. Microbiol.* 2016; 1(1):15008. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2015.8.

5. Zakharova I.B., Toporkov A.V., Viktorov D.V. [Melioidosis and glanders: the current state of the problem and topical issues of epidemiological surveillance]. *Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii [Journal of Microbiology, Epidemiology and*

Immunobiology]. 2018; (6):103–9. DOI: 10.36233/0372-9311-2018-6-103-109.

6. Toporkov A.V., editor. [Melioidosis and Glanders]. Volgograd: Volga-Press; 2016. 400 p.

7. Ngauy V., Lemeshev Y., Sadkowski L., Crawford G. Cutaneous melioidosis in a man who was taken as a prisoner of war by the Japanese during World War II. *J. Clin. Microbiol.* 2005; 43(2):970–2. DOI: 10.1128/JCM.43.2.970-972.2005.

8. Berger S. Melioidosis and Glanders: Global Status. 2018 edition. GIDEON Informatics, Inc., Los Angeles, California, USA; 2018. 99 p.

9. Elschner M.C., Hnizdo J., Stamm I., El-Adawy H., Mertens K., Melzer F. Isolation of the highly pathogenic and zoonotic agent *Burkholderia pseudomallei* from a pet green Iguana in Prague, Czech Republic. *BMC Vet. Res.* 2014; 10:283. DOI: 10.1186/s12917-014-0283-7.

10. Kanishchev V.V., Morozov A.S., Lakomov V.P., Omel'yanenko S.R., Bukhaeva Yu.V., Troshev R.G., Murav'ev A.G. [The use of disinfectants registered in Russia by the RCB protection forces in biological emergencies]. *Vestnik Voisk Radiatsionnoi Khimicheskoi i Biologicheskoi Zashchity [Journal of RCB Protection Corps]*. 2018; 2(4):57–67.

11. Health Council of the Netherlands. Resistance due to disinfectants. Background report to the advisory report *Careful use of disinfectants*. The Hague: Health Council of the Netherlands, 2016; publication No. A16/03E. [Internet]. Available from: <https://www.healthcouncil.nl/binaries/healthcouncil/documenten/advisory-reports/2016/12/21/resistance-due-to-disinfectants-background-report/advisory-report-resistance-due-to-disinfectants.pdf>.

12. Ahn Y., Kim J.M., Kweon O., Kim S.J., Jones R.C., Woodling K., Gamboa da Costa G., LiPuma J.J., Hussong D., Marasa B.S., Cerniglia C.E. Intrinsic resistance of *Burkholderia cepacia* complex to benzalkonium chloride. *mBio.* 2016; 7(6):e01716-16. DOI: 10.1128/mBio.01716-16.

13. Chacón-Jiménez L., Rojas-Jiménez K. Resistencia a desinfectantes y su relación con la resistencia a los antibióticos. *Acta Médica Costarricense.* 2020; 62(1):7–12.

14. Wuthiekanun V., Amornchai P., Saiprom N., Chantratita N., Chierakul W., Koh G.C., Chaowagul W., Day N.P., Limmathurotsakul D., Peacock S.J. Survey of antimicrobial resistance in clinical *Burkholderia pseudomallei* isolates over two decades in Northeast Thailand. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2011; 55(11):5388–91. DOI: 10.1128/AAC.05517-11.

15. Khosravi Y., Vellamy K.M., Mariappan V., Ng S.L., Vadivelu J. Antimicrobial susceptibility and genetic characterisation of *Burkholderia pseudomallei* isolated from Malaysian patients. *ScientificWorldJournal.* 2014; 2014:132971. DOI: 10.1155/2014/132971.

16. Sergeev V.I., Klyukina T.V., Volkova E.O., Reshetnikova N.I., Klyuchareva N.M. [Formation of resistance to disinfectants in *Enterobacter cloacae* and *Pseudomonas aerogenosa* under the influence of bactericidal concentrations of drugs in the experiment]. *Meditsinsky Al'manakh [Medical Almanac]*. 2015; 5(40):112–5.

17. Shkarin V.V., Kovalishina O.V., Blagodarova A.S., Vorob'eva O.N., Alekseeva I.G., Yakovleva E.I., Bugrova M.L. Formation of bacterial resistance to quaternary ammonium compounds under experimental conditions. *Meditsinsky Al'manakh [Medical Almanac]*. 2012; 3(22):129–33.

18. Aarestrup F.M., Hasman H. Susceptibility of different bacterial species isolated from food animals to copper sulphate, zinc chloride and antimicrobial substances used for disinfection. *Vet. Microbiol.* 2004; 100(1–2):83–9. DOI: 10.1016/j.vetmic.2004.01.013.

19. Rose H., Baldwin A., Dowson C.G., Mahenthiralingam E. Biocide susceptibility of the *Burkholderia cepacia* complex. *J. Antimicrob. Chemother.* 2009; 63(3):502–10. DOI: 10.1093/jac/dkn540.

20. Jenney A.W., Lum G., Fisher D.A., Currie B.J. Antibiotic susceptibility of *Burkholderia pseudomallei* from tropical northern Australia and implications for therapy of melioidosis. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2001; 17(2):109–13. DOI: 10.1016/S0924-8579(00)00334-4.

21. Anutrakunchai C., Bolscher J., Krom B.P., Kanthawong S., Chareonsudjai S., Taweechaisupapong S. Impact of nutritional stress on drug susceptibility and biofilm structures of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia thailandensis* grown in static and microfluidic systems. *PLoS One.* 2018; 13(3):e0194946. DOI: 10.1371/journal.pone.0194946.

Authors:

Luchinin D.N., Molchanova E.V., Zakharova I.B., Viktorov D.V. Volgograd Research Anti-Plague Institute, 7, Golubinskaya St., Volgograd, 400131, Russian Federation. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.

Об авторах:

Лучинин Д.Н., Молчанова Е.В., Захарова И.Б., Викторов Д.В. Волгоградский научно-исследовательский противочумный институт. Российская Федерация, 400131, Волгоград, ул. Голубинская, 7. E-mail: vari2@sprint-v.com.ru.