



издается с 1952 года

ФАРМАЦИЯ

научно-практический журнал

www.rusvrach.ru

FARMATSIIYA

в номере:

- РЕГИСТРАЦИЯ ЛЕКАРСТВ В ЕВРОПЕ
- ПРОБЛЕМА РАСТВОРИМОСТИ АЦИКЛОВИРА
- СТАБИЛЬНОСТЬ МАСЛЯНЫХ ЭКСТРАКТОВ
- РЕКЛАМНЫЕ СЛОГАНЫ В ФАРМАЦИИ

7
2014

ДЕЙСТВИЕ ТРЕТИЧНЫХ АЛКИЛАМИНОВ НА ПЛАНКТОННЫЕ КУЛЬТУРЫ И БИОПЛЕНКИ *ESCHERICHIA COLI* И *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Л.В. Диденко¹, докт. биол. наук,

А.И. Иванов², докт. мед. наук, профессор, Т.А. Смирнова¹, докт. биол. наук,

Э.Р. Толордава¹, М.В. Зубашева¹, канд. мед. наук, канд. биол. наук,

Г.Г. Кардаш³, канд. хим. наук, Д.А. Куршин³, О.В. Емшанов^{3*}, Г.А. Автандилов⁴

¹НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи; 123098, г. Москва, ул. Гамалеи, д. 18

²Первый МГМУ им. И. М. Сеченова; 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

³ООО «ИНТЕРСЭН-плюс»; 141004, г. Мытищи, ул. Силикатная, д. 19

⁴МГМСУ им. А.И. Евдокимова; 127473, г. Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1

*E.mail: oemshanov@gmail.com

Изучено воздействие третичных алкиламинов на биологические пленки, сформированные клиническими изолятами *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*. Методом сканирующей электронной микроскопии выявлен выраженный повреждающий эффект на экзополисахаридный матрикс биопленок и разрушение бактерий внутри него. Выявлен повреждающий эффект и механизм действия третичных алкиламинов на планктонные бактерии, который связан с разрушением пептидогликана, клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, цитоплазмы, рибонуклеопротеидного комплекса. Установлено, что тотальные изменения в структурной организации бактерий лимитируют развитие устойчивости бактерий к данному препарату. Определены концентрации препарата на основе третичных алкиламинов для оказания антибактериального эффекта на бактерии в составе биопленок.

Ключевые слова: механизм действия третичных алкиламинов, дезинфицирующие средства, биологические пленки, биопленки, экзополисахаридный матрикс, разрушение биопленки, борьба с биопленками, дезинфицирующее средство для борьбы с биопленками.

Одним из наиболее важных достижений медицинской и клинической микробиологии последних лет является открытие и изучение биологических пленок. Биопленки представляют собой сообщества микробов, а в некоторых случаях и патогенных грибов, поддерживающие свой состав и расселяющиеся за счет клеток, периодически высвобождающихся и мигрирующих за пределы биопленки, образуя новые сообщества [1–4]; 99% всех микроорганизмов на планете обитают в сообществах. Биопленка — предпочтительная форма существования бактерий, которая при наличии коммуникаций внутри сообщества обеспечивает им защиту и выживаемость даже в случае неблагоприятной окружающей среды [5].

Строение биопленок разных систематических групп бактерий принципиально одинаково. Объединение бактерий в биопленку происходит посредством экзоклеточного матрикса, основным компонентом которого являются полисахариды. В состав экзополисахаридного матрикса также входят белки, липиды, нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК). Полисахариды обладают протективными свойствами и препятствуют проникновению антибактериальных веществ внутрь организованной биопленки [6–11]. Бактерии в биопленке находятся в тесной межклеточной коммуникации: при взаимодействии с раздражителем они продуцируют сигнальные молекулы (аутоиндукторы), которые регулируют их жизнедеятельность. С увеличением массы биопленки увеличивается и концентрация аутоиндукторов. При достижении определенной концентрации аутоиндукторы связываются с рецепторами на поверхности клеточной стенки соседних бактерий (достижение кворума), активируют внутриклеточные сигнальные пути, под действием которых меняется экспрессия определенных генов [12–14]. Процесс такого информационного обмена бактериальных клеток между собой получил название «кворум сенсинг» (Quorum Sensing). Оно означает восприятие клетками изменений среды, которые наступают при достижении бактериальной культурой некоторой пороговой численности, и реакцию на эти изменения [15].

Вышеуказанные особенности строения и функции бактериальных биопленок определяют их устойчивость в отношении биоцидных препаратов,

как отдельных бактерий в организованном сообществе, так и всей популяции в целом. По данным литературы, примером защитной функции экзополисахаридного матрикса (ЭПМ) является выживание *Salmonella typhimurium* и *Listeria monocytogenes* в биопленке при хлорировании. ЭПМ ограничивает диффузию хлора через поверхность биопленки внутрь, тем самым обеспечивая устойчивость бактерий к этому способу дезинфекции [16]. Гипохлорит-ионы также снижают свою активность за счет инактивации их матриксом в поверхностных слоях бактериальной пленки [17]. Показано, что средства на основе четвертичных аммонийных соединений (ЧАС) оказались неэффективны против биопленок, образованных *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Listeria monocytogenes* и *Staphylococcus aureus* даже в высоких концентрациях, поскольку отрицательно заряженные полисахариды ЭПМ способны связывать положительно заряженные молекулы ЧАС, защищая таким образом биопленку от уничтожения [18]. Этот же механизм является причиной устойчивости микробных пленок к дезинфицирующим средствам на основе фенольных соединений [19, 20]. По мнению некоторых авторов, широко применяемые дезинфицирующие средства на основе формальдегида, глутарового альдегида и ортофталевого альдегида неэффективны против микробных пленок [21].

Третичные алкиламины (третичные амины, триамины, амины) относятся к группе катионных поверхностно активных веществ. В настоящее время дезинфицирующие средства на основе третичных алкиламинов широко распространены, поскольку обладают биоцидной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, в том числе микобактерий туберкулеза, патогенных и плесневых грибов, вирусов, имея при этом низкие показатели токсичности. Основное действующее вещество препарата — третичный алкиламин — представляет собой асимметричную молекулу, состоящую из гидрофобной алифатической цепи ($R=C_{12}H_{25}$) и гидрофильных полярных групп $R-N(CH_2)_3NH_2$. Свободные аминогруппы и атомы третичного азота формируют щелочную среду, которая повышает антимикробную активность препарата. Дезинфицирующие средства на основе третичных алкиламинов отвечают всем требованиям, предъявляемым к современным дезинфицирующим препаратам: высоко стабильны, хорошо растворимы в воде, не повреждают обрабатываемую поверхность, обладают моющими свойствами и относятся к 4 классу малоопасных веществ.

Цель исследования — определить эффективную антибактериальную концентрацию третичных алкиламинов в отношении планктонных бактерий и его воздействие на биологические пленки клини-

ческих изолятов *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*; с помощью электронно-микроскопических методов исследования изучить характер и степень повреждений структуры планктонных форм бактерий и биопленок под действием третичных алкиламинов.

Экспериментальная часть

В исследовании были использованы клинические изоляты *Escherichia coli* (*E.coli*) и *Staphylococcus aureus* (*St.aureus*).

Дезинфицирующее средство (биоцидный препарат) представлял собой концентрат третичных алкиламинов для приготовления рабочих растворов, основное активно действующее вещество (АДВ) — N,N-бис(3-аминопропил)додециламин (5,0% в концентрате), коммерческое название дезинфицирующего средства — «Оптимакс» [22]. Характер и степень повреждений структуры планктонных форм бактерий и биопленок под действием дезинфицирующего средства определяли с помощью электронно-микроскопических методов исследования.

Для получения биопленки в условиях *in vitro* ночную бактериальную культуру разводили до 10^3 – 10^2 кл/мл в LB-бульоне (Luria-Bertani), затем 150–200 мкл переносили в стерильные пробирки объемом 5 мл и растили в термостате при температуре 37°C в течение 2 сут. В это время бактерии, способные образовывать биопленку, прикреплялись к внутренней поверхности лунки и формировали макроскопически видимый налет.

Сформировавшиеся в пробирках биопленки обрабатывали разными концентрациями (0,005; 0,0125; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 и 5,0% по АДВ) применяемого препарата в течение 1 ч. После этого тщательно отмывали биопленку от средства дистиллированной водой и добавляли питательную среду — LB-бульон. Спустя 1 сут производили высев из пробирок на агаризованные среды (для *E. coli* — среда Эндо, для *St.aureus* — желточно-солевой агар). Учет результатов проводили по количеству КОЕ, образовавшихся на агаризованных питательных средах спустя 24 ч после посева.

Для исследования воздействия третичных алкиламинов на биологические пленки, образованные клиническими изолятами *E.coli* и *St.aureus*, были использованы образцы биопленок этих видов бактерий, выращенные на кремниевых подложках в питательном LB-бульоне в чашках Петри в течение 2 сут. Опытные образцы биопленок подвергались в течение 1 ч воздействию третичных алкиламинов в концентрациях больших, чем при работе с планктонными культурами (0,25 и 0,5% по препарату). Более высокая концентрация дезинфицирующего средства в этой части исследования была выбрана для лучшей

визуализации морфологических изменений в биопленке. Контрольные образцы в течение 1 ч находились в дистиллированной воде. После завершения инкубации образцы биопленок были фиксированы по методу Ito–Karnovsky в течение 1 ч, отмыты дистиллированной водой, напылены нанослоем золота толщиной 5 нм в напылительной установке (SPI Inc. USA). Далее препараты анализировали с помощью двулучевого сканирующего электронного микроскопа Quanta 200 3D.

Для изучения воздействия третичных алкиламинов на ультраструктурную организацию планктонных клеток клинических изолятов *E.coli* и *St.aureus* методом трансмиссионной электронной микроскопии суточные культуры были обработаны средством на основе третичных алкиламинов в концентрациях 0,0125 и 0,025%. Время инкубации составило 1 ч. В качестве контроля были взяты культуры, выращенные на питательных средах и помещенные в дистиллированную воду на 1 ч.

Образцы биопленок, сформированные в течение 2 сут на стенках пробирки и обработанные средством на основе третичных алкиламинов в концентрациях 0,25 и 0,5%, получали путем механического соскабливания с помощью скальпеля. Образцы фиксировали по методу Ito–Karnovsky, обезживали в спиртах восходящей концентрации и заливали в LR White (PLANO W.Plannet GmbH). Ультратонкие срезы получали на ультрамикротоме «LKB-3», окрашивали по методу Reynolds и анализировали в электронном микроскопе «GEM – 100B».

Оценка антимикробной активности дезинфицирующих средств, как правило, проводится по традиционным микробиологическим методи-

кам, в результате которых регистрируется способность микроорганизмов к росту на питательных средах после воздействия на них дезинфицирующего средства с нейтрализацией по истечении времени экспозиционной выдержки. Применение традиционных микробиологических методов оценки биоцидной активности в отношении обрабатываемых бактериями в неблагоприятных для них условиях биопленок неэффективно, поскольку ростовые свойства бактерий в составе биопленок могут быть изменены. По этой причине отсутствие роста бактерий из биопленок после их обработки дезинфицирующим средством нельзя считать критерием утраты ими жизнеспособности. Кроме того, микробиологическими методами невозможно оценить действие дезинфицирующего средства на экзоточный матрикс биопленок, который препятствует проникновению активного биоцида внутрь и инактивирует его.

Микроскопические методы существенно расширяют возможности объективизации оценки действия биоцидных препаратов на микроорганизмы, поскольку при их использовании визуализируется процесс ориентированного действия молекул биоцидного вещества на структурные компоненты как бактерий, так и биопленок. О жизнеспособности обработанных дезинфицирующим средством бактерий можно судить по характеру и степени структурных изменений компонентов бактериальной клетки [23, 24].

Согласно полученным данным, средство на основе третичных алкиламинов обладает биоцидной активностью в отношении планктонных клеток золотистого стафилококка и кишечной палочки в концентрации от 0,0125 и 0,025% (по АДВ) соответственно. Учет результатов роста микроорганизмов в пробирке производили по градиенту мутности (табл. 1).

Таблица 1

ПОКАЗАТЕЛИ ВЫЖИВАЕМОСТИ ПЛАНКТОННЫХ БАКТЕРИЙ ПОСЛЕ ОБРАБОТКИ РАСТВОРАМИ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ТРЕТИЧНЫХ АЛКИЛАМИНОВ РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ

Бактерии	С, % (по АДВ)					контроль
	0,0025	0,005	0,0125	0,025	5,0	
<i>Escherichia coli</i> , КОЕ/мл	10 ⁹	10 ⁸	10 ²	0	0	10 ⁹
<i>Staphylococcus aureus</i> , КОЕ/мл	10 ⁸	10 ⁶	0	0	0	10 ⁹

Таблица 2

ПОКАЗАТЕЛИ ВЫЖИВАЕМОСТИ БАКТЕРИЙ В БИОПЛЕНКАХ, ОБРАБОТАННЫХ РАСТВОРАМИ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ТРЕТИЧНЫХ АЛКИЛАМИНОВ РАЗЛИЧНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ

Бактерии	С, % (по АДВ)					контроль
	0,05	0,1	0,25	0,5	5,0	
<i>Escherichia coli</i> , КОЕ/мл	10 ⁹	10 ⁸	10 ²	0	0	10 ⁹
<i>Staphylococcus aureus</i> , КОЕ/мл	10 ⁸	10 ⁶	0	0	0	10 ⁹

Для определения сохраненных жизнеспособных клеток в составе биопленок после их обработки средством на основе третичных алкиламинов были поставлены опыты по воздействию дезинфицирующего средства непосредственно на биопленку. После отмывания биопленок от дезинфицирующего средства и добавления вновь питательного бульона рост бульонной культуры возможен при условии сохранения ими ростовых свойств. После обработки

средством на основе третичных алкиламинов предварительно образованных биопленок высевы из питательного бульона спустя 24 ч роста продемонстрировали наличие в биопленках жизнеспособных бактерий – при концентрации раствора 0,25% для кишечной палочки, а для золотистого стафилококка – 0,1% (табл. 2). Последующее увеличение концентрации дезинфицирующего средства приводило к прекращению роста бактерий.

Установлено, что препарат способен проникать внутрь биопленки и оказывать бактерицидный эффект на бактерии, интегрированные в биопленку. Следует подчеркнуть, что для оказания биоцидного эффекта на бактерии, находящиеся в биопленках, необходимо использовать более высокие концентрации средства на основе третичных алкиламинов, чем на планктонные формы.

Для уточнения характера воздействия дезинфицирующего средства непосредственно на ЭПМ биопленки и структурную организацию бактерий внутри биопленки были проведены ультраструктурные исследования с использованием сканирующего электронного микроскопа, позволяющего оценить нативные необезвоженные препараты биопленок. Возможность такого изучения предотвращает возникновение артефактов, связанных с обязательной дегидратацией препаратов при стандартных методах исследования электронно-микроскопическими методами. Известно, что ЭПМ биопленок состоит из воды примерно на 90%, поэтому для оценки его состояния после воздействия дезинфицирующих препаратов чрезвычайно важно сохранять его нативную структуру [23, 24].

Результаты исследования в сканирующем электронном микроскопе показали, что под дей-

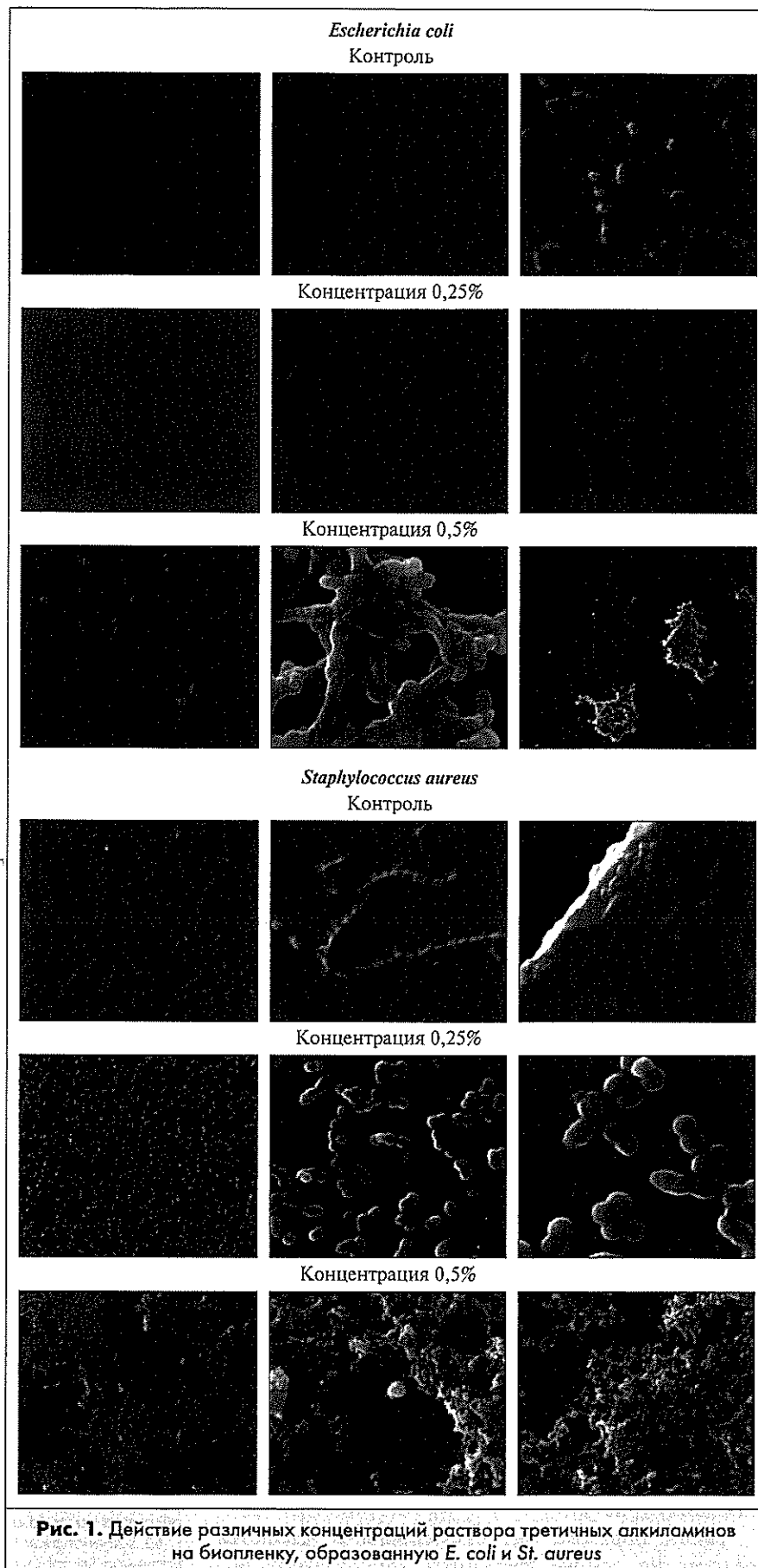


Рис. 1. Действие различных концентраций раствора третичных алкиламинов на биопленку, образованную *E. coli* и *St. aureus*

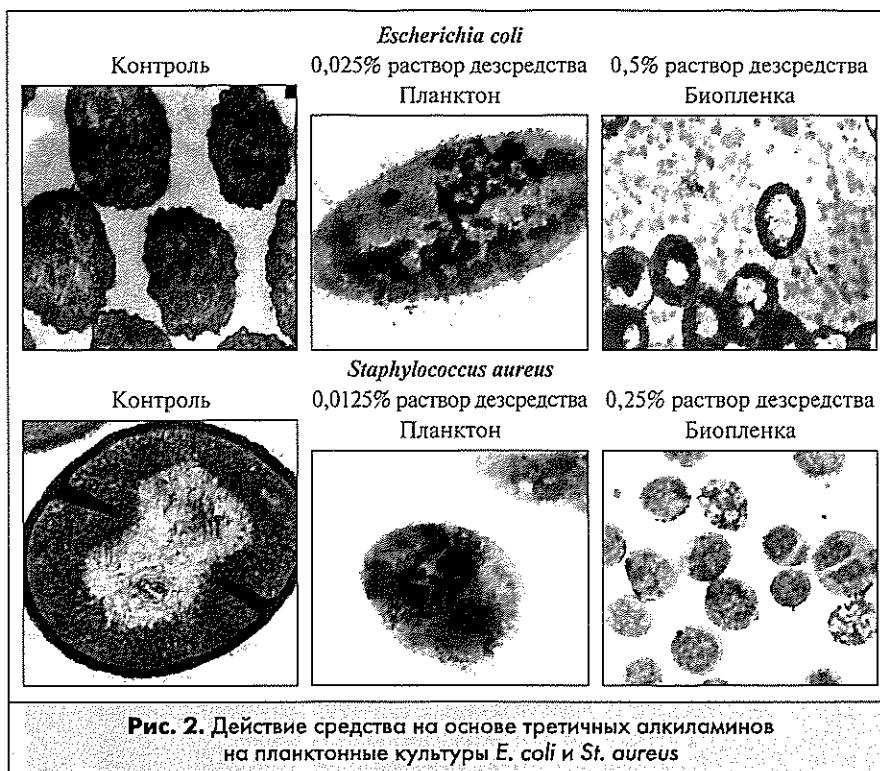


Рис. 2. Действие средства на основе третичных алкиламинов на планктонные культуры *E. coli* и *St. aureus*

ствием средства на основе третичных алкиламинов в концентрациях 0,25 и 0,5% происходит грубая дезорганизация ЭПМ, в результате чего обнажается поверхность бактерий, которые без покрова матриксом становятся уязвимыми для прямой атаки дезинфицирующего средства (рис. 1). Таким образом, наблюдается прямая зависимость между повышением концентрации дезинфицирующего средства и дезорганизацией экзоточного матрикса.

Детализация структурных изменений в бактериях под действием средства на основе третичных алкиламинов была проведена с помощью метода ультратонких срезов с использованием трансмиссионного электронного микроскопа. Было показано, что у грамположительных и грамотрицательных бактерий происходило разрушение клеточной стенки (КС) и цитоплазматической мембраны (ЦПМ), отмечалась тотальная дезорганизация цитоплазмы и рибонуклеопротеидного комплекса. Поскольку мишенью для атаки молекул третичными алкиламинами являются фосфатные группировки биологических молекул — белков, фосфолипидов, ДНК, РНК, то можно предположить и наличие деструктивного эффекта на плазмиды — внехромосомные факторы наследственности, ответственные за возникновение и распространение устойчивости бактерий. Такие же изменения в структурной организации происходили и в бактериях, интегрированных в биопленку (рис. 2).

Таким образом, антибактериальные свойства средства на основе третичных алкиламинов по-

зволяют считать эффективным препаратом для борьбы с биопленками.

Выводы

1. Бактерицидный эффект средства на основе третичных алкиламинов для планктонных культур проявляется в концентрации свыше 0,025% для *Escherichia coli* и 0,0125% для *Staphylococcus aureus*.

2. Для оказания бактерицидного эффекта на бактерии в составе биопленки необходимо существенное повышение концентрации средства на основе третичных алкиламинов от 0,5% для *Escherichia coli* и от 0,25% для *Staphylococcus aureus*.

3. Повреждающий эффект средства на основе третичных алкиламинов на бактерии связан с разрушением пептидогликана, клеточной стенки, цитоплазматической мембраны, цитоплазмы, рибонуклеопротеидного комплекса. Тотальные изменения в структурной организации бактерий лимитируют развитие устойчивости бактерий к данному препарату.

4. Средство на основе третичных алкиламинов оказывает выраженный повреждающий эффект на экзополисахаридный матрикс биопленок и собственно на сами бактерии внутри них. Разрушение бактерий внутри биопленок свидетельствует о том, что средство на основе третичных алкиламинов преодолевает протективный барьер, а это — важный показатель биоцидной активности третичных алкиламинов.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Тетц В.В. Клеточные сообщества. СПб., 1998. 15-73 с. (Tetz V.V. Cellcommunity. Spb. 1998. 15-73 p.)
2. Costerton J.W., Stewart P.S., Greenberg E.P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Sci. 1999; 284: 1318-1322.
3. O'toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Ann Rev Microbiol. 2000; 54: 49-79.
4. Costerton W., Veoh R., Shirtliff M. et al. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. Clin. 2003; 112: 1466-1477.
5. Lewis K. 2001. Riddle of biofilm resistance. Antimicrob. Agents Chemother. 45: 999-1007.
6. Tetz V.V., Rybalchenko V. Ultrastructure of colony-like communities of bacteria. ApMIS, 1997; 105: 99-107.
7. Tetz V.V., Rybalchenko O.V., Savkova G.A. Ultrastructure of surface film of bacterial colonies. J. gen. Microbiol. 1993; 137: 1081-1088.
8. Discov D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. Nat Rev. 2003; 2: 114-122.
9. Tetz V.V., Korobov V.P., Artemenko N.K. Extracellular phospholipids of isolated bacterial communities. Biofilms. 2004; 1: 149-155.
10. Sutherland I.W. Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. Microbiology. 2001; 147: 3-9.

11. Sponza D.T. Investigation of extracellular polymer substances (epS) and physicochemical properties of different activated sludge flocs under steady-state conditions. *Enzyme Microb. technol.* 2003; 32: 375–385.
12. Bauer W.D., Robinson J.B. Disruption of bacterial quorum sensing by other organisms. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2002; 13: 234–237.
13. Bauer W.D., Robinson J.B. Disruption of bacterial quorum sensing by other organisms. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2002; 13: 234–237.
14. Bonaventura G.Di., Spedicato L., D'antonio D. et al. Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia*: Modulation by quinolones, trimethoprim-Sulfamethoxazole and ceftazidime. *Antimicrob. agentschemother.* 2004; 48 (1): 151–160.
15. Greenberg E., Winans S. Fuqua quorum-sensing by bacteria. *Ann Rev Microbiol.* 1996; 50: 727–751.
16. Ronner A.B., Wong A.C.L. Biofilm development and sanitizer inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella Typhimurium* on stainless steel and Buna-n rubber. *Journal of Food Protection.* 1993; 56: 750–758.
17. Brown M.R.W., Gilbert P. Sensitivity of biofilms to antimicrobial agents. *J. Appl. Microbiol.* 1993;47: 87–97.
18. Campanac C., Pineau L., Payard A., Baziard-Moyse G., Roques C. Interaction between biocide cationic agents and bacterial biofilm. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002;46: 1469–1474.
19. Wright N.E., Gilbert P. Influence of specific growth rate and nutrient limitation upon the sensitivity of *E. coli* towards chlorhexidineacetate. *J. Appl. Bacteriol.* 1987; 62: 309–314.
20. Gilbert P., Brown M.R.W. Influence of growth rate and nutrient limitation on the gross cellular composition of *Pseudomonas aeruginosa* and its resistance to 3- and 4-chlorophenol. *J. Bacteriol.* 1978;133: 1066–1072.
21. Gomes De Saravia S.G., Fernandes Lorenzo De Mete. Non-invasive methods for monitoring biofilm growth on industrial water systems. *Latin Am. Appl. Res.* 2003; 33: 353–359.
22. Инструкция по применению дезинфицирующего средства «ОПТИМАКС». (Instructions for use of disinfectant «OPTIMAX».)
23. Романова Ю.М., Алексеева Н.В., Смирнова Т.А., Андреев А.А., Диденко Л.В., Гинцбург А.А. Способность к формированию биопленок в искусственных системах у различных штаммов *Salmonella typhimurium*. Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2006. № 4. С. 38–42. (Romanova Y.M., Alekseeva, N.V., Smirnova T.A., Andreev A.L., Didenko L.V., Gunzburg A.L. Ability to form biofilm in artificial systems in different strains *Salmonella typhimurium*. *Journal of Microbiology Epidemiology and immunobiology.* 2006. № 4. P. 38–42.)
24. Смирнова Т.А., Диденко Л.В., Азизбекян Р.Р., Романова Ю.М. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок. Микробиология. 2010. Т. 79. № 4. С. 435–446. (Smirnova T.A., Didenko L.V., Azizbekyan R.R., Romanova Y.M. Structural and functional characterization of bacterial biofilms. *Microbiology.* 2010 T. 79. № 4. P. 435–446.)

Поступила 2 июня 2014 г.

EFFECTS OF TERTIARY ALKYL AMINES ON THE PLANKTONIC CULTURES AND BIOFILMS OF ESCHERICHIA COLI AND STAPHYLOCOCCUS AUREUS

L.V. Didenko¹, PhD; Professor A.I. Ivanov², MD; T.A. Smirnova¹, PhD, E.R. Tolordava¹; M.V. Zubasheva¹, MD & PhD; G.G. Kardash³, PhD; D.A. Kurshin³; O.V. Emshanov³; G.A. Avtandilov⁴

¹N.F. Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology; 18, Gamaleya St, Moscow 123098

²I.M. Sechenov First Moscow State Medical University; 8, Trubetskaya St., Build 2, Moscow 119991

³ООО «INTERSEN-plus»; 19, Silikatnaya, Mytishchi 141004

⁴A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry; 20, Delegatskaya St., Moscow 127473

SUMMARY

Biofilms are communities of microbes and occasionally pathogenic fungi, which maintain their layer and settle separately due to the cells that periodically release and migrate beyond the biofilm to create new communities. This existence form and communications within the community ensure their protection and survival upon exposure to unfavorable environmental factors, including antibacterial substances. This investigation studied the effect of tertiary alkyl amines on the biological films formed by clinical *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* isolates. Scanning electron microscopy revealed their marked damaging effect on the biofilm exopolysaccharide matrix and bacterial destruction within the latter. The mechanism of damaging action of tertiary alkyl amines on planktonic bacteria, which was associated with the destruction of peptidoglycan, cell walls, cytoplasmic membranes, cytoplasm, and ribonucleoprotein complex, was found. Total changes in the structure of bacteria were ascertained to limit the development of their resistance to this agent. The concentrations of preparaten based on tertiary alkyl amines were determined to affect the bacteria contained in the biofilms.

Key words: mechanism of action; tertiary alkyl amines; disinfectants; biological films; biofilms; exopolysaccharide matrix; biofilm destruction; biofilm control; disinfectants for biofilm control.