

УДК 615.281.9:076.7

DOI: 10.34215/1609-1175-2025-3-45-50



Сравнительная оценка эффективности полигексанида и Тригексилон[®] против биопленок карбапенемазопroduцирующих *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*

Е.М. Гордина, С.А. Божкова, О.С. Туфанова, С.С. Торопов, Л.Н. Смирнова

Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург, Россия

Цель исследования – сравнительная оценка действия полигексанида и антисептика Тригексилон[®] на сформированные биопленки карбапенемазопroduцирующих *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией. **Материалы и методы.** Выделение клинических изолятов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* выполняли в соответствии с международными стандартами микробиологических исследований. Видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF MS. Чувствительность к антибактериальным препаратам – в соответствии с EUCAST v.15.0. Детекцию генов карбапенемазы осуществляли методом Real-time PCR. Биопленки карбапенем-устойчивых *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* формировали в течение 48 часов. Затем лунки обрабатывали 200 мкл 0,2% раствора полигексанида или Тригексилон[®] (2,8–3,6 мг/мл) в течение 5, 10, 20, 40 минут. Деструктивное действие антисептиков определяли путем окраски биопленок 0,1% раствором генцианвиолета в сравнении с контролем. Для определения влияния антисептиков на sessильные бактериальные клетки в каждую лунку добавляли 190 мкл среды LB и 10 мкл водного раствора резазурина. Статистический анализ выполняли в GraphPad Prism 9.0. **Результаты.** *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* продуцировали карбапенемазы различных групп. Все включенные в исследование штаммы были чувствительны к полигексаниду и Тригексилон[®] и образовывали биопленки. Установлено, что оба антисептика эффективно снижали биомассу сформированных биопленок *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae*. Выявлено, что Тригексилон[®] при экспозиции 5 минут не оказывал эффективного деструктивного действия на биопленки IMP-продуцирующего изолята *P. aeruginosa* в отличие от раствора полигексанида, который был активен уже через 5 минут выдержки. Кроме того, оба тестируемых антисептика демонстрировали антибактериальное действие в отношении sessильных форм *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* в составе биопленок. **Заключение.** Выполненное исследование подчеркивает значимость потенциальной антибиопленочной активности полигексанида для клинического использования, особенно в ортопедической хирургии, где профилактика и лечение инфекций, связанных с биопленкой, имеют решающее значение. Дальнейшие исследования должны быть сосредоточены на оптимизации времени воздействия антисептического препарата и разработке улучшенных стратегий промывания, обеспечивающих достаточное антибактериальное действие, хорошую цитосовместимость, а также экономическую выгоду с учетом стоимости используемых препаратов.

Ключевые слова: полигексанид, Тригексилон[®] карбапенемазы, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*

Поступила в редакцию: 14.05.2025. Получена после доработки: 03.06.2025. Принята к публикации: 11.07.25

Для цитирования: Гордина Е.М., Божкова С.А., Туфанова О.С., Торопов С.С., Смирнова Л.Н. Сравнительная оценка эффективности полигексанида и Тригексилон[®] против биопленок карбапенемазопroduцирующих *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Тихоокеанский медицинский журнал. 2025;3:45–50. doi: 10.34215/1609-1175-2025-3-45-50

Для корреспонденции: Гордина Екатерина Михайловна – канд. мед. наук, старший научный сотрудник отделения профилактики и лечения раневой инфекции Национального медицинского исследовательского центра травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена (195427, Санкт-Петербург, ул. Ак. Байкова, 8); ORCID: 0000-0003-2326-7413; e-mail: emgordina@win.rniito.ru

Polyhexanide and Trigexylon[®] against biofilms of carbapenemase-producing *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*

Е.М. Gordina, S.A. Bozhkova, O.S. Tufanova, S.S. Toropov, L.N. Smirnova

Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics, St. Petersburg, Russia

Objective. To compare the effect of polyhexanide and Trihexylon[®] on the biofilms formed by carbapenemase-producing *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* isolated from patients with orthopedic infection. **Materials and methods.** Isolation of *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* was performed in 2025 in accordance with the internationally-accepted standards of microbiological research. Species identification was performed by MALDI-TOF MS. Susceptibility to antibacterial drugs was determined by EUCAST v.15.0. Carbapenemase genes were detected by real-time PCR. Biofilms of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* were cultivated for 48 h. Subsequently, the wells were treated with 200 µl of 0.2% polyhexanide solution or Trihexylon[®] for 5, 10, 20, 40 min. The destructive effect of antiseptic compositions was determined by staining the biofilms with 0.1% gentian violet solution followed by their comparison with the control. To determine the effect of the studied antiseptic compositions on sessile bacterial cells, 190 µl of LB medium and 10 µl of an aqueous solution of resazurin were added to each well. Statistical analysis was performed in the GraphPad Prism 9.0 environment. **Results.** *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* produced various types of carbapenemases. All strains included in the study were sensitive to polyhexanide and Trihexylon[®], and formed biofilms. Both antiseptic compositions effectively reduced the biomass of formed biofilms of *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*. Exposure to Trihexylon[®] for 5 min had no effective destructive effect on biofilms of the IMP-producing

isolate of *P. aeruginosa*. In comparison, the polyhexanide solution was active following 5 min of exposure. Both compositions demonstrated antibacterial activity against the sessile forms of *P. aeruginosa* and *K. pneumoniae*. **Conclusion.** The results obtained indicate the potential antibiofilm activity of polyhexanide for clinical use. This is of particular importance for orthopedic surgery, where the prevention and treatment of biofilm-related infections are critical. Further studies should focus on optimizing the exposure duration and developing improved irrigation strategies to ensure sufficient antibacterial activity, cytocompatibility, and economic efficiency considering the cost of the preparations.

Keywords: Polyhexanide, Trihexylon® carbapenemases, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*

Received 14 May 2025; Revised 3 June 2025; Accepted 11 July 2025

For citation: Gordina E.M., Bozhkova S.A., Tufanova O.S., Toropov S.S., Smirnova L.N. Polyhexanide and Trigexylon® against biofilms of carbapenemase-producing *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*. *Pacific Medical Journal*. 2025;3:45–50. doi: 10.34215/1609-1175-2025-3-45-50

Corresponding author: Ekaterina M. Gordina, Cand. Sci. (Med.), Senior Researcher of the Division of Wound Infection Treatment and Prevention of Vreden National Medical Research Center of Traumatology and Orthopedics (8, Akademika Baykova str., St. Petersburg, 195427, Russia); ORCID: 0000-0003-2326-7413; e-mail: emgordina@win.rniito.ru

Несмотря на достижения современной медицинской науки, в настоящее время частота развития перипротезной инфекции (ППИ) составляет 1,63 и 1,55% случаев после первичных операций по эндопротезированию тазобедренного и коленного суставов соответственно [1]. В этиологии ППИ ведущую роль занимают различные виды стафилококков, суммарный вклад которых в спектр возбудителей оценивается в 50% [2], при этом доля грамотрицательных возбудителей (*P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*) составляет 15–20% [3, 4]. Однако выделение грамотрицательного возбудителя является самостоятельным предиктором неблагоприятного исхода комплексного лечения таких пациентов [3]. Наличие у бактерий различных механизмов резистентности к антибиотикам, включая продукцию ферментов, инактивирующих антибактериальные препараты, а также формирование на поверхности имплантированных ортопедических конструкций и окружающих тканях микробных биопленок ведет к неэффективности антибактериальной терапии.

Биопленки вносят значительный вклад в развитие хронических инфекций за счет необратимого прикрепления к биотическим (различные ткани организма) и абиотическим (медицинские имплантаты, катетеры) поверхностям [5]. После созревания биопленку чрезвычайно сложно элиминировать, что приводит к длительным и рецидивирующим инфекциям. Биопленки ответственны примерно за 80% трудно поддающихся лечению длительных инфекций, что представляет собой значительную проблему в системе здравоохранения. Сесильные бактерии демонстрируют заметно повышенную устойчивость к антибиотикам по сравнению с планктонными клетками, что связано с ограниченным доступом лекарств, дефицитом питательных веществ и адаптивными реакциями на неблагоприятные условия [5]. Патогены защищены от факторов иммунной системы хозяина за счет окружения многокомпонентным матриксом, создающим физическое препятствие для иммунных клеток. В ряде случаев биопленки могут вызывать иммунологические реакции, которые приводят к повреждению окружающих тканей [5]. Бактерии с множественной лекарственной устойчивостью чаще формируют микробные биопленки на поверхностях установленных имплантатов

и фрагментах костной ткани по сравнению с антибиотикочувствительными бактериями [6].

Применение местных антисептических средств является одной из основных методик в комплексном лечении инфицированных ран [7]. Примерами современных антисептиков являются полигексанид, октенидина дигидрохлорид или повидон-йод. Следует отметить, что широко используемый антисептик хлоргексидин исключен из протоколов по лечению раневых инфекций из-за растущей к нему резистентности бактерий и возможности развития перекрестной устойчивости патогенов к антибиотикам [8].

Цель исследования – сравнительная оценка действия полигексанида и нового отечественного антисептика Тригексилон® на сформированные биопленки карбапенемазопродуцирующих *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией.

Материалы и методы

В исследование включены клинические штаммы *K. pneumoniae* ($n = 3$) и *P. aeruginosa* ($n = 3$) с минимальной ингибирующей концентрацией карбапенемов выше 2 мг/л. Выделение клинических изолятов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* выполняли проспективно в 2025 году в соответствии с международными стандартами микробиологических исследований. Видовую идентификацию выполняли методом MALDI-TOF MS с использованием системы FlexControl и программного обеспечения MBT Compass 4.1., Score $\geq 2,0$. Номер штамма соответствует его идентификационному номеру в системе лабораторной информационной системы «Акросс-Инжири». Чувствительность *K. pneumoniae* изучали к 18 антибактериальным препаратам, *P. aeruginosa* – к 11 в соответствии с требованиями EUCAST v.15.0 (табл. 1).

Бактериальную ДНК выделяли с использованием набора «ДНК-Сорб-АМ» согласно инструкции производителя (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). Детекцию генов карбапенемаз групп KPC/OXA-48 и металло-бета-лактамаз группы NDM осуществляли методом Real-time PCR с использованием наборов реагентов с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс MDR KPC/

Таблица 1

Перечень препаратов для определения антибиотикочувствительности бактерий

Вид	Препараты в соответствии с EUCAST v.15.0
<i>K. pneumoniae</i> № 10037654 № 10061997 № 10051833	Азтреонам, амикацин, ампициллин/сульбактам, пиперациллин/тазобактам, амоксициллин/клавулоновая кислота, цефотаксим, цефтазидим, имипенем, меропенем, эртапенем, моксифлоксацин, левофлоксацин, ципрофлоксацин, тобрамицин, триметоприм/сульфаметоксазол, цефепим, цефтриаксон, колистин
<i>P. aeruginosa</i> № 10084695 № 10051819 № 10045019	Азтреонам, амикацин, колистин, левофлоксацин, ципрофлоксацин, меропенем, пиперациллин/тазобактам, цефтолозан/тазобактам, тобрамицин, цефепим, цефтазидим

ОХА-48-FL» и «АмплиСенс MDR MBL-FL» (Интерлабсервис, ФБУН ЦНИИЭ, Россия) на приборе «Амплификатор Real-time CFX96 Touch» (BioRAD, США).

Биопленки *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* формировали в полистироловых 96-луночных плоскодонных планшетах в течение 48 часов. Для этого в лунки планшета вносили 180 мкл стерильного бульона LB и 20 мкл взвеси суточной культуры бактерий (0,5 по шкале МакФарланда). Через двое суток промытые, высушенные лунки обрабатывали 200 мкл 0,2% раствора полигексанида («Лавасепт», Солюфарм, Германия) или Тригексилоном® (3-ГСН) на основе водорастворимого трихелатного комплекса хлоргексидиния-цинка этилендиаминтетраацетата, (Росбио, Россия) в концентрации 2,8–3,6 мг/мл в течение 5, 10, 20, 40 минут. Контрольные лунки обрабатывали физиологическим раствором.

Деструктивное действие антисептиков определяли путем окраски сформированных и промытых после антисептиков биопленок 0,1% раствором генцианвиолета в сравнении с контролем. Суммарную биомассу сформированных пленок оценивали по оптической плотности (ОП) полученных спиртовых экстрактов связавшегося красителя при 570 нм на спектрофотометре «Spectrostar Nano». Статистически значимое снижение ОП экстрактов красителя опытных лунок в сравнении с ОП контрольных лунок считали достаточным временем для разрешения биомассы микробной пленки.

Для определения влияния антисептиков на sessильные бактериальные клетки после промывки в каждую лунку с биопленкой добавляли 190 мкл среды LB и 10 мкл водного раствора резазурина (Eugen). Микропланшеты инкубировали в течение 2 часов в темноте при 37 °С. Изменение цвета с синего на розовый указывает на восстановление резазурина живыми бактериальными клетками. Эффективной считали длительность экспозиции антисептика, при которой не регистрировали изменение окраски резазурина, подтверждающее угнетение метаболической активности бактерий.

Статистический анализ полученных результатов выполняли с помощью программы GraphPad Prism 9.0 (США) с использованием *t*-теста. Значения $p < 0,05$ считали статистически значимыми.

Результаты исследования

Все протестированные штаммы *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* характеризовались устойчивостью ко всем антибактериальным препаратам за исключением колистина и продуцировали карбапенемазы различных групп. Так, 2 изолята *P. aeruginosa* были продуцентами карбапенемазы группы VIM, один – IMP. У всех *K. pneumoniae* определяли ферменты группы NDM, причем у штамма № 1833 определяли наличие двух карбапенемаз – NDM и ОХА-48.

Все включенные в исследование штаммы были чувствительны к полигексаниду и 3-ГСН и образовывали биопленки. Установлено, что оба антисептика эффективно снижали биомассу сформированных биопленок *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* (рис. 1).

Показано, что полигексанид был более эффективен в сравнении с 3-ГСН против сформированных биопленок *K. pneumoniae* № 1833. В отношении биопленок остальных штаммов данного вида антисептики демонстрировали практически одинаковую активность и статистически значимо снижали биомассу 48-часовых биопленок уже через 5 минут экспозиции.

Выявлено, что 3-ГСН при экспозиции 5 минут не оказывал эффективного деструктивного действия на биопленки IMP-продуцирующего изолята *P. aeruginosa* № 4695 (рис. 2).

Статистически значимое снижение биомассы регистрировали при экспозиции более 10 мин. Кроме того, данный препарат не разрушал биопленки штамма № 5019 даже при максимальном времени воздействия – 40 минут. В свою очередь, полигексанид был эффективен в отношении всех сформированных биопленок *P. aeruginosa* уже через 5 минут экспозиции.

Особый интерес представляет собой оценка влияния антисептиков на sessильные бактериальные клетки в составе биопленок. Определено, что оба тестируемых антисептика демонстрировали антибактериальное действие в отношении бактериальных клеток *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* в составе биопленок (табл. 2).

Выявлено, что под действием 3-ГСН 2 в составе биопленок, сформированных *P. aeruginosa* 4695 и 5018,

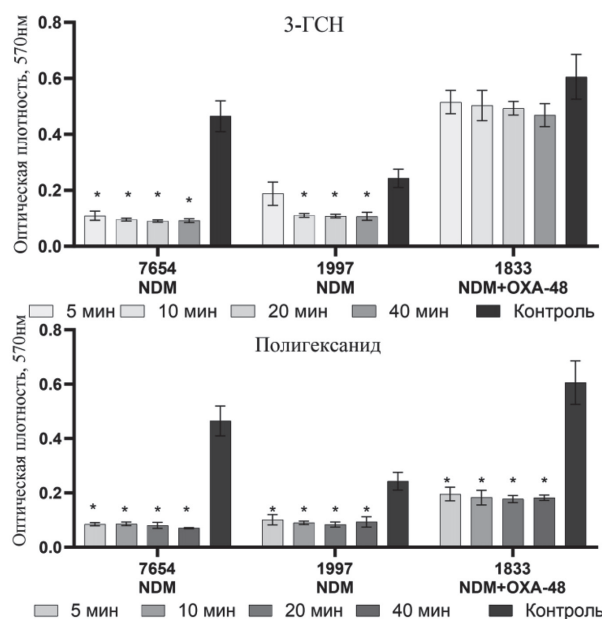


Рис. 1. Биомасса биопленок *K. pneumoniae* после экспозиции различной длительности с тестируемыми антисептиками.

Примечание: * – $p < 0,05$.

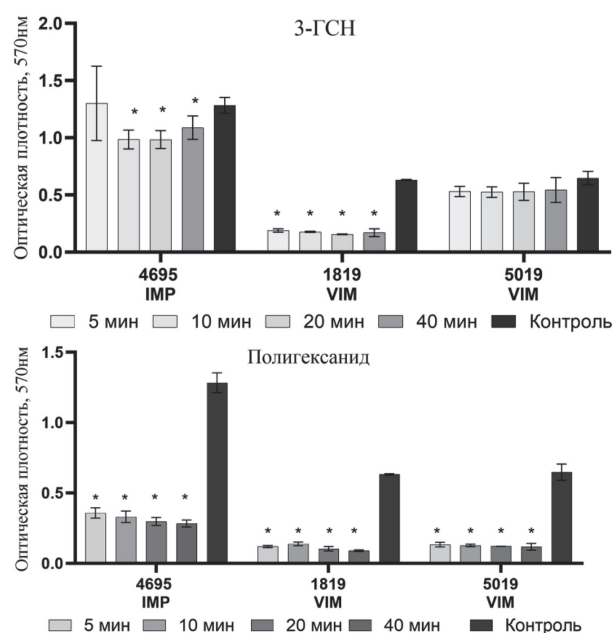
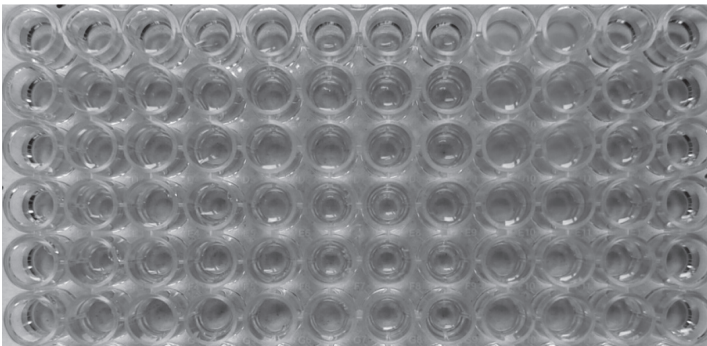


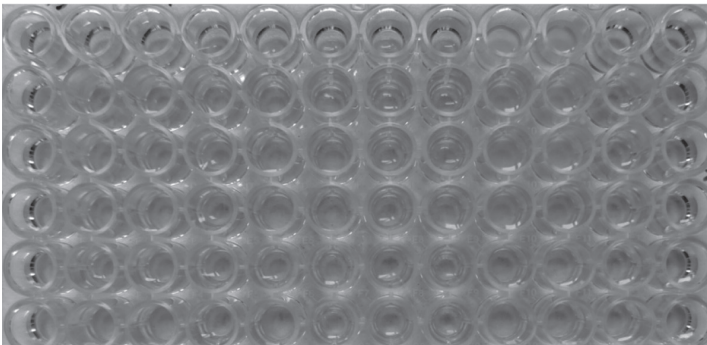
Рис. 2. Биомасса биопленок *P. aeruginosa* после экспозиции различной длительности с тестируемыми антисептиками.

Примечание: * – $p < 0,05$.

Таблица 2

Метаболическая активность сессильных бактерий в присутствии резазурина после обработки лунок антисептиком

Антисептик	№ штамма	5 минут	10 минут	20 минут	40 минут	K+	K-
K. pneumoniae							
0,2% раствор полигексанида	7654						
	1997						
	1833						
3-ГСН 2,8–3,6 мг/мл	7654						
	1997						
	1833						

P. aeruginosa							
0,2% раствор полигексанида	4695						
	1819						
	5019						
3-ГСН 2,8–3,6 мг/мл	4695						
	1819						
	5019						

сохранялись метаболически активные бактериальные клетки, о чем свидетельствовало незначительное изменение цвета резазурина.

Обсуждение полученных данных

Устойчивые к карбапенемам Enterobacterales (CRE) имеют особое значение из-за их высокой устойчивости, в том числе к антибиотикам расширенного спектра из других групп препаратов, и классифицируются как продуценты (CP-CRE) и непродуценты (non-CP CRE) карбапенемаз [9]. Продукция карбапенемаз является наиболее важным механизмом защиты среди карбапенем-устойчивых штаммов *K. pneumoniae* [10]. В нашем исследовании все три штамма данного вида характеризовались продукцией металло- β -лактамаз группы NDM и один из них был также продуцентом сериновой OXA-48. Среди изученных изолятов *P. aeruginosa* регистрировали 2 типа карбапенемаз – VIM и IMP.

Растущее количество устойчивых к антибиотикам возбудителей, в том числе карбапенем-устойчивых грамотрицательных бактерий, все больше ограничивает применение классических схем лечения антибактериальными препаратами [5, 11]. Наличие неорганических поверхностей имплантатов и биоматериалов способствует образованию биопленки, снижая проникновение антибиотиков в сформированные зрелые микробные сообщества [12]. Поэтому, несмотря на проведение системной этиотропной антибактериальной терапии, сохраняется очаг инфекции, который становится причиной неэффективности консервативного лечения, развития рецидива и необходимости повторной операции с удалением инфицированного имплантата. Эти проблемы подчеркивают необходимость в альтернативных стратегиях, в частности локальном применении антисептиков и использовании резервных антибактериальных препаратов.

Адаптивные механизмы резистентности бактерий к антибиотикам вызывают глобальную обеспокоенность в отношении современных и классических фармацевтических методов лечения [13]. Большое значение в травматологии и ортопедии имеет радикальная хирургическая обработка очага с удалением зрелых биопленок на пораженных тканях и имплантатах с локальной обработкой местными антисептиками. Такая методика обеспечивает механическую очистку и антимикробную защиту для эрадикации возбудителя и его биопленки. Большинство существующих на сегодня эффективных стратегий противодействия процессу биопленкообразования являются экспериментальными и не внедрены в клиническую практику.

Использование антисептиков широко применяется в различных отраслях медицины и является одним из методов, обеспечивающих антибиопленочное действие [14]. K. Barrigah-Benissan и соавт. [14] показали, что различные антисептики (гипохлорит натрия, повидон-йод, полигексаметиленбигуанид и октенидин) характе-

ризуются активностью против 72-часовых биопленок *P. aeruginosa* и снижают микробную обсемененность хронических ран *in vitro*. Авторы отмечают, что тестируемые ими антисептики активно влияли на начальную фазу образования биопленки *P. aeruginosa* и при увеличении концентрации действующих веществ снижали количество биопленочных бактерий.

В выполненном нами исследовании протестированы два активных в отношении изученных штаммов антисептика – полигексанид и 3-ГСН. Установлено, что 0,2% раствор полигексанида был значительно активнее, чем новый антисептик 3-ГСН в концентрации 2,8–3,6 мг/мл как в отношении всей биомассы сформированных 48-часовых биопленок карбапенемазопро-дуцирующих бактерий, так и против sessильных бактерий. При этом важно отметить, что статистически значимое снижение биомассы микробной биопленки регистрировали уже через 5 минут экспозиции. Ранние исследования также демонстрируют высокую активность растворов на основе полигексанида в эрадикации биопленок *P. aeruginosa*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией [11].

Полученные нами результаты более низкой активности водорастворимого трихелатного комплекса хлоргексидиния-цинка этилендиаминтетраацетата (3-ГСН) могут быть связаны с менее активным разрушением матрикса биопленок тестируемых штаммов, что не позволило данному антисептику проникнуть внутрь зрелой биопленки.

Заключение

Выполненное исследование показывает чувствительность антибиотикорезистентных штаммов к тестируемым антисептикам, подчеркивает значимость потенциальной антибиопленочной активности раствора полигексанида для клинического использования, особенно в ортопедической хирургии, где профилактика и лечение инфекций, связанных с биопленкой, имеют решающее значение. Сохранение метаболической активности бактерий в составе биопленки подтверждает необходимость тщательной ревизии очага инфекции с удалением пораженных перипротезных тканей и инфицированного имплантата. Дальнейшие исследования должны быть сосредоточены на оптимизации времени воздействия антисептического препарата и разработке улучшенных стратегий промывания, обеспечивающих достаточное антибактериальное действие, хорошую цитосовместимость, а также экономическую выгоду с учетом стоимости используемых препаратов.

Конфликт интересов: авторы декларируют отсутствие конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источники финансирования: научное исследование выполнено в рамках реализации темы государственного задания № 056-00123-21-00.

Участие авторов:

Концепция и дизайн исследования – ГЕМ, БСА

Экспериментальные исследования – ГЕМ, БСА, ТОС, ТСС, СЛН

Статистическая обработка – ГЕМ, СЛН

Написание текста – ГЕМ, БСА, ТОС

Литература / References

1. Tubb CC, Polkowsi GG., Krause B. Diagnosis and prevention of periprosthetic joint infections. *J Am Acad Orthop Surg.* 2020;28(8):e340-e348. doi: 10.5435/JAAOS-D-19-00405
2. Касимова А.Р., Туфанова О.С., Гордина Е.М. Гвоздецкий А.Н., Радаева К.С., Рукина А.Н., Божкова С.А., Тихилов Р.М. Двенадцатилетняя динамика спектра ведущих возбудителей ортопедической инфекции: ретроспективное исследование. *Травматология и ортопедия России.* 2024;30(1):66–75. [Kasimova AR, Tufanova OS, Gordina EM, Gvozdetzky AN, Radaeva KS, Rukina AN, Bozhkova SA, Tikhilov RM. Twelve-year dynamics of leading pathogens spectrum causing orthopedic infections from 2011 to 2022: A retrospective study. *Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2024;30(1):66–75 (In Russ.)]. doi: 10.17816/2311-2905-16720
3. Туфанова О.С., Касимова А.Р., Астахов Д.И., Рукина А.Н., Божкова С.А. Факторы, влияющие на течение и прогноз имплантат-ассоциированной инфекции, вызванной *Klebsiella* spp. *Травматология и ортопедия России.* 2024;30(2):40–53. [Tufanova OS, Kasimova AR, Astakhov DI, Rukina AN, Bozhkova SA. Factors affecting the course and prognosis of implant-associated infection caused by *Klebsiella* spp. *Traumatology and Orthopedics of Russia.* 2024;30(2):40–53. (In Russ.)]. doi: 10.17816/2311-2905-16719
4. Pfang BG, García-Cañete J, García-Lasheras J, Blanco A, Auñón Á, Parron-Camero R, Macías-Valcayo A, Esteban J. Orthopedic implant-associated infection by multidrug resistant *Enterobacteriaceae*. *J Clin Med.* 2019;8(2):220. doi: 10.3390/jcm8020220
5. Almatroudi A. Biofilm resilience: molecular mechanisms driving antibiotic resistance in clinical contexts. *Biology (Basel).* 2025;14(2):165. doi: 10.3390/biology14020165
6. Macías-Valcayo A, Aguilera-Correa JJ, Broncano A, Parron R, Auñón A, García-Cañete J, Blanco A, Esteban J. Comparative in vitro study of biofilm formation and antimicrobial susceptibility in Gram-negative bacilli isolated from prosthetic joint infections. *Microbiol Spectr.* 2022;10(4):e0085122. doi: 10.1128/spectrum.00851-22
7. Alves PJ, Barreto RT, Barrois BM, Gryson LG, Meaume S, Monstrey SJ. Update on the role of antiseptics in the management of chronic wounds with critical colonisation and/or biofilm. *Int Wound J.* 2021;18(3):342–58. doi: 10.1111/iwj.13537
8. Van den Poel B, Saegeman V, Schuermans A. Increasing usage of chlorhexidine in health care settings: blessing or curse? A narrative review of the risk of chlorhexidine resistance and the implications for infection prevention and control. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2022;41(3):349–62. doi: 10.1007/s10096-022-04403-w
9. Lasko MJ, Nicolau DP. Carbapenem-resistant Enterobacterales: considerations for treatment in the era of new antimicrobials and evolving enzymology. *Curr Infect Dis Rep.* 2020;22:6. doi:10.1007/s11908-020-0716-3
10. Mendes G, Santos ML, Ramalho JF, Duarte A, Caneiras C. Virulence factors in carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Front Microbiol.* 2023;14:1325077. doi: 10.3389/fmicb.2023.1325077
11. Dudek B, Brożyna M, Karoluk M, Frankiewicz M, Migdał P, Szustakiewicz K, Matys T, Wiater A, Junka A. *In vitro* and *in vivo* translational insights into the intraoperative use of antiseptics and lavage solutions against microorganisms causing orthopedic infections. *Int J Mol Sci.* 2024;25(23):12720. doi: 10.3390/ijms252312720
12. Kadirvelu L, Sivaramalingam SS, Jothivel D, Chithiraiselvan DD, Karaiyagowder Govindarajan D, Kandaswamy K. A review on antimicrobial strategies in mitigating biofilm-associated infections on medical implants. *Curr. Res. Microb. Sci.* 2024;6:100231. doi: 10.1016/j.crmicr.2024.100231
13. Algammal A, Hetta H.F, Mabrok M, Behzadi P. Editorial: Emerging multidrug-resistant bacterial pathogens "superbugs": A rising public health threat. *Front Microbiol.* 2023;14:1135614. doi: 10.3389/fmicb.2023.1135614
14. Barrigah-Benissan K, Ory J, Duniach-Remy C, Pouget C, Lavigne JP, Sotto A. Antibiofilm properties of antiseptic agents used on *Pseudomonas aeruginosa* isolated from diabetic foot ulcers. *Int J Mol Sci.* 2022;23(19):11270. doi: 10.3390/ijms231911270