

Н. О. Вринчану, Д. М. Дудікова, Н. І. Гринчук, В. В. Недашківська

## Біоплівки. Сучасний стан та перспективи антимікробної терапії

Державна установа «Інститут фармакології та токсикології  
Національної академії медичних наук України», м. Київ

**Ключові слова:** біоплівки,  
антибіотикорезистентність,  
*Quorum sensing*, персистери

Одне з величних досягнень ХХ століття – упровадження в клінічну практику антибіотиків та антимікробних препаратів. Застосування пеніциліну та інших антибіотиків у десятки разів зменшило летальність як від особливо небезпечних захворювань (чума, дифтерія, тиф), так і від таких розповсюджених тяжких інфекційних хвороб, як пневмонія, ендокардит, менінгіт, туберкульоз, сепсис, сприяло зниженню захворюваності на гонорею, сифіліс тощо.

У ХХ столітті в клінічну практику впроваджено значну кількість антимікробних препаратів (АМП), а за відкриття та розробки, пов'язані з інфекційною патологією, отримано 23 Нобелівські премії. Значні досягнення в антиінфекційній терапії стали підґрунтям для вислову: «Настав час закрити книгу інфекційних хвороб і перевести національні ресурси на боротьбу з онкологічними захворюваннями та хворобами серця» (В. Стюарт, 1967 р.) [1]. Проте практично одночасно з використанням антибіотиків були виявлені стійкі до їхньої дії штами збудників [2]. Так, резистентні до пеніциліну штами стафілококу були виявлені вже через 2 роки після впровадження в клінічну практику (1943 р.), до дії даптоміцину та цефтароліну – через рік (2004 і 2010 р. відповідно). Згідно з даними GLASS (Глобальна система нагляду за стійкістю до антимікробних препаратів), опублікованими в 2017 році, щорічно антибіотикорезистентні штами зумовлюють гнійно-запальні процеси в 500 тис. осіб [3], а витрати

на лікування пацієнтів у країнах ЄС сягають 7 млрд євро, у США – 6,5 млрд доларів США [4–6]. За прогнозами аналітиків, до 2050 року смертність від інфекційних хвороб у Європі може скласти 400 тис. осіб, в Азії – близько 5 млн осіб щорічно [7].

Причиною виникнення стійкості збудників до АМП є не лише їхнє нерациональне використання, але й обмаль даних щодо особливостей життєвого циклу мікроорганізмів, їхніх структурних і фізіологічних особливостей, соціальної поведінки, здатності до контактного та дистанційного спілкування, взаємозв'язків з макроорганізмом.

Упродовж тривалого часу мікроорганізми сприймалися як планктонні одноклітинні без'ядерні організми, які розмножуються поділом клітин. Саме з урахуванням такої форми існування мікроорганізмів були встановлені механізми дії антибактеріальних препаратів, схеми та режими їхнього застосування. Сучасна лабораторна техніка та методи дослідження дозволили розширити уявлення про структуру та фізіологічні особливості мікроорганізмів. Виявлено, зокрема, наявність фізичного контакту між мікроорганізмами, що забезпечує горизонтальний перенос генетичної інформації, у тому числі генів резистентності, та хімічної комунікації – основи соціальної поведінки бактерій і грибів у мікробних спільнотах [8].

*Мета дослідження* – узагальнити дані щодо структури бактеріальних біоплівок, механізмів їхньої стійкості до антимікробних засобів та пошуку нових активних речовин з антибіоплівковою активністю.

*Структура та властивості біоплівки.* Біоплівки (агрегати, скупчення) – структурована спільнота клітин бактерій

і грибів, оточених полімерних матриксом, прикріпленням до поверхні. Основними складовими матриксу біоплівки є: вода (до 97 %), клітини мікроорганізмів (до 5 %), полісахариди, білки та нуклеїнові кислоти (до 2 % кожного компоненту) [9]. Цикл розвитку біоплівки складається з декількох етапів: адгезії планктонних клітин до поверхні, формування моношару та дозрівання біоплівки з утворенням усіх її структур. Завершується розвиток біоплівки розривом матриксу та дисемінацією планктонних клітин з наступною колонізацією ними нових поверхонь.

Бактерії в біоплівках набувають особливої форми антибіотикорезистентності, що проявляється в підвищеній стійкості до антимікробних агентів, дезінфектантів та імунного захисту макроорганізму. Мікроорганізми виживають за концентрацій перекису водню або молочної кислоти в 4–8 разів більших, ніж необхідно для пригнічення росту окремих бактерій поза плівкою, а також у присутності антибіотиків у 500–1000 разів вищих дозах, ніж їхні мінімальні інгібуючі концентрації відносно планктонних клітин [10]. Крім відомих механізмів стійкості мікроорганізмів до антибактеріальних засобів (модифікація структури мішені, інактивація антибіотика ферментами, гіперактивність ефлюкських помп, зниження проникності клітинної мембрани) біоплівці притаманні специфічні механізми захисту, зокрема: 1) низька проникність матриксу, 2) активація системи *Quorum sensing* (QS) та 3) утворення клітин-персистерів зі сповільненим метаболізмом.

**Матрикс біоплівок.** Матрикс біоплівки є позаклітинною полімерною субстанцією, сформованою полісахаридами, білками, ліпідами та нуклеїновими кислотами [9]. Складові матриксу забезпечують стабільність об'ємної структури біоплівок, регулюють їхню здатність прикріплюватися до поверхні, визначають обмін поживних речовин, рідин і газів, молекул і клітин між навколишнім середовищем і біоплівкою. Транспортні властивості матриксу обумовлені фізико-хімічними

властивостями його компонентів, а також будовою каналів. Унаслідок стержневих перешкод або можливої взаємодії антимікробних речовин з компонентами матриксу (сорбція до матриксу, інактивація антибіотика) проникність останнього знижується, терапевтичні (ефективні) концентрації антимікробних речовин всередині біоплівки не досягаються [11].

**Система *Quorum sensing*.** Процес формування біоплівки регулюється складними механізмами міжклітинної комунікації *Quorum sensing* (QS), яка вперше описана К. Н. Nealson (1970 р.) як система регуляції біоломінесценції в морської бактерії *Vibrio fischeri*. Система QS регулює вірулентність бактерій, синтез токсинів, антибіотиків, ферментів, процес споруючості, формування мікробних угруповань (рисунк), взаємодію між мікроорганізмами та організмом господаря.

Сигнальна система QS включає два обов'язкові компоненти: низькомолекулярний регулятор (автоіндуктор – AI), який легко дифундує через клітинну мембрану та рецепторний регуляторний білок, з яким зв'язується AI. У разі досягнення певної щільності популяції AI накопичуються до необхідного порогового значення та взаємодіють із відповідними регуляторними білками з утворенням комплексу «AI-рецепторний білок», який зв'язується з промоторними ділянками генів-мішеней, що викликає різку індукцію експресії певних генів, відповідальних за синтез альгінату, ДНК та інших речовин. Використовуючи QS, мікроорганізми здійснюють внутрішньовидову, міжвидову комунікацію, взаємодіють з вищими еукаріотами, забезпечують виживаність за несприятливих умов, зокрема, впливу агресивних речовин – антибіотиків і дезінфектантів [13–14].

У бактерій виділяють декілька типів (видів) AI:

– похідні N-ацил-гомосеринлактону (автоіндуктор-1, AI-1) синтезуються грамнегативними бактеріями, сьогодні налічується близько 40 видів AI-1. Рецепторні білки, з якими зв'язується AI-1, та їхні синтази,

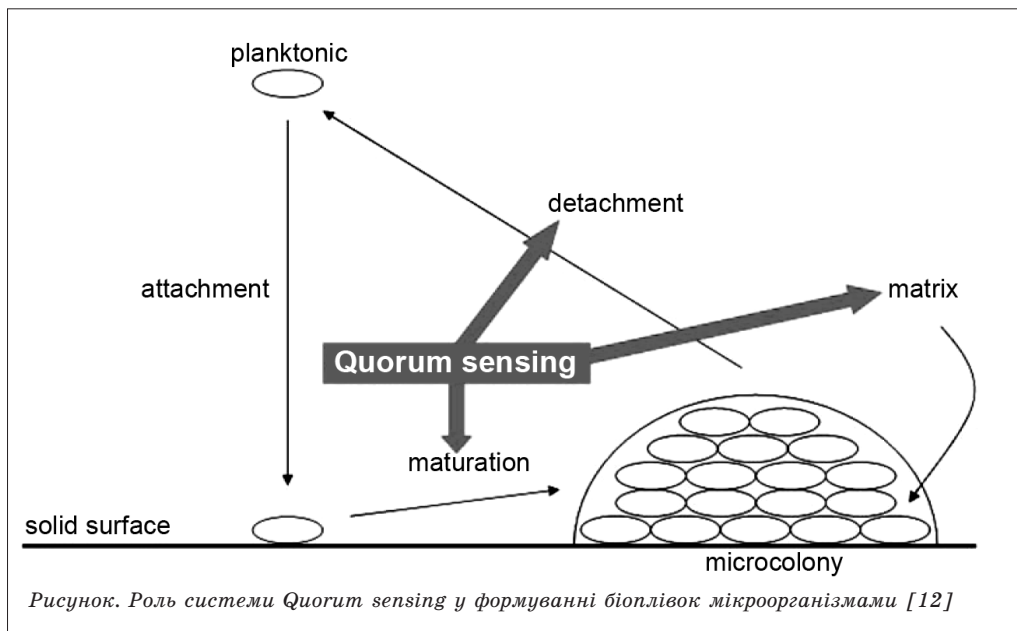


Рисунок. Роль системи Quorum sensing у формуванні біоплівки мікроорганізмами [12]

гомологічні LuxI і LuxR білкам *Vibrio fischeri*. Наприклад, у *Pseudomonas aeruginosa* описано 2 типи QS-систем – LasI-LasR і RhlI-RhlR. Система LasI-LasR регулює синтез факторів вірулентності (еластаз, протеаз, ендотоксинів) та активує другу систему QS. Синтаза LasI відповідає за продукцію N-(3-оксододеканоїл)-гомосеринлактону (3-охо-C12-HSL). Система RhlI-RhlR забезпечує виживаність синьогнійної палички в навколишньому середовищі, контролює експресію генів вірулентності та синтез піоціаніну. RhlI-синтаза визначає синтез N-бутирил-гомосеринлактону (C4-HSL);

- фуранозил-боратдієфір (автоіндуктор 2, AI-2) синтезується грамположитивними та грамнегативними бактеріями, регулює синтез факторів вірулентності у *Vibrio cholerae* та *Escherichia coli*, споруляцію у *Bacillus subtilis*. Синтаза AI-2 – LuxS – кодується генами *luxS*;
- AI ароматичної природи (автоіндуктор-3, AI-3) виявлені в *E. coli*, *Enterobacter cloacae*, *Shigella*, *Salmonella* та *Klebsiella*. AI-3 характерні для системи QS, яка регулює процеси адгезії мікроорганізмів до епітеліальних клітин, активує експресію генів *flhDC*-оперона, що контролюють синтез джгутиків у бактерій.

Системи QseCB та QseEF, окрім синтезу AI-3, впливають на продукцію організмом господаря катехоламінових гормонів, зокрема, епінефрину/норепінефрину (адреналіну/норадреналіну);

- пептидні AI – сигнальні молекули з тіолактонним кільцем, які синтезуються грамположитивними бактеріями. Найвивченішою є QS система *Staphylococcus aureus*, що контролює процеси адгезії та колонізації мікроорганізмів, синтез токсинів, ферментів тощо. У стафілококів виявлено 4 типи пептидних AI. Цікавим є факт, що кожен тип AI, активуючи власний специфічний рецепторний білок, пригнічує активацію трьох інших типів [12–14].

Встановлено, що один вид бактерій може використовувати та розпізнавати різні типи сигнальних молекул, а сама система QS може бути мішенню дії антимікробних лікарських препаратів.

Пошук сполук з вираженою антибіоплівковою активністю, здатних порушувати QS-регуляцію патогенних бактерій, є важливим прикладним аспектом фундаментальних досліджень. Можливими механізмами впливу на систему QS може бути пригнічення синтезу AI, порушення зв'язування AI з рецепторними білками, розщеплення

сигнальних молекул, антагоністична дія відносно АІ тощо. Натепер відомо, що азитроміцин та аспірин здатні впливати на експресію генів QS, інгібувати фактори вірулентності бактерій, рухливість і плівкоутворення *P. aeruginosa* в умовах *in vitro* та *in vivo* [15–17]. Порушення біосинтезу урацилу 5-фторурацилом попереджує плівкоутворення синьогнійної палички, пригнічує синтез QS-факторів патогенності [18–19]. Нітрогліцерин запобігає зв'язуванню АІ з рецептором, що призводить до пригнічення плівкоутворення *P. aeruginosa*, синтезу піоціаніну та протеаз [20]. Похідні фуранонів виявляють антагоністичну активність відносно АІ бактерій [13–14]. Протимікробні властивості виявлено також у антигельмінтного препарату ніклозаміду (інгібує синтез QS – залежних сигнальних молекул AHL у *P. Aeruginosa*) [18, 21].

**Клітини-персистери.** За стресових умов частина мікробної популяції переходить у метаболічно інертний стан, який зумовлює стійкість біоплівки до антимікробних препаратів [22]. Субпопуляція клітин-персистерів за генотипом відповідає батьківській і виявляється в будь-якій мікробній популяції в невеликій кількості (0,1–1,0 %), незалежно від наявності стрес-факторів [23, 24]. Натепер запропоновано два можливих механізми переходу клітин мікроорганізмів у стан персистенції.

Перший з них обумовлений сигнальною системою загальної стресової відповіді (SOS-відповідь) з вторинним месенджером (алармоном) гуанозину поліфосфатом – (p)ppGp. Внаслідок ушкодження мікробних клітин сублетальними концентраціями антимікробних засобів активується зазначена сигнальна система, збільшується внутрішньоклітинний рівень (p)ppGp, що стимулює перехід клітин у персистуючий стан [25].

Другий механізм полягає в синтезі клітиною певного токсину (білок), який порушує трансляцію інших білків або деградацію РНК і блокує його дії – антитоксину (РНК або білок). Система «токсин-антитоксин» (ТА) контролює ріст і метаболізм бактерій. Так, Lon-

протеаза розпізнає та зумовлює деградацію агрегованих білків, сприяє деградації антитоксинів білкової природи й активації мРНК-ендонуклеаз [26].

За дії антимікробного агента (чи іншого стресора) активується синтез токсину, пригнічується синтез антитоксину та блокується певна мішень – метаболічний процес, що призводить до переходу клітин у стан спокою [22, 27, 28]. Так, гіперпродукція токсину RelE супроводжується збільшенням клітин-персистерів у популяції в 10 000 разів (з 0,1 % до 100 %) [29]. За відсутності стресора синтез антитоксину поновлюється, токсин інактивується, що призводить до відновлення росту бактерій [26].

ТА-система активується під впливом стресу, відповідь на який розповсюджується за допомогою «алармону» (p)ppGpp, що синтезується в разі активації токсинів RelA і SpoT. За його взаємодії з РНК-полімеразою відбувається зміна транскрипції та пригнічення синтезу білка. Також (p)ppGpp безпосередньо пригнічує реплікацію ДНК у клітинах мікроорганізмів [22, 25]. Недоліком гіпотез щодо участі ТА-систем в утворенні клітин-персистерів є одночасне набуття стійкості до багатьох антибактеріальних факторів, у тому числі й до фізико-хімічних. Тому формуванню персистентності має забезпечуватись або токсином, який блокує дуже велику кількість мішеней, або кількома ТА-системами одночасно [28].

Стимулюють утворення клітин-персистерів речовини, що знижують метаболічну активність клітин, серед яких інгібітори синтезу білка (тетрациклін, рифампіцин), метаболізму фосфатів, синтезу АТФ і дихання клітин [30]. Саме з цим пов'язана увага науковців на дослідження антибіоплівкової дії нових сполук і препаратів, здатних впливати на енергетичні або метаболічні процеси в клітинах, а також на речовини, що не потребують метаболічно активної мішені. Прикладом є протитуберкульозний препарат піразинамід (PZA), цистеїн, ретиноїди. Встановлено, що піразинамід виснажує енергію мембрани *Mycobacterium tuberculosis* та

інгібує транс-трансляцію в клітинах-персистерах [31], цистеїн і деякі тиол-вмісні сполуки – стимулюють дихання бактеріальних клітин [32], ретиноїди (похідні вітаміну А) – виявляють активність щодо персистерів за рахунок зв'язування з фосфоліпідами мембран грамполозитивних бактерій, що призводить до порушення структури мембрани [33]. Експериментально доведено, що деякі сполуки сприяють реверсії персистерів грамнегативних бактерій у метаболічно активні клітини за рахунок посилення активності дихання, зміни структури білків і підвищення експресії окремих генів. Такі властивості виявлено в цис-2-деканової (або деценової) кислоти [34]. Встановлено, що підвищувати чутливість персистерів до дії антимікробних засобів здатні фуранони – інгібітори QS [35]. Перспективними антимікробними засобами можуть бути комбінації відомих АМП з пептидами. Так, тобраміцин, модифікований Реп-пептидом, викликає загибель клітин-персистерів, обумовлену порушенням структури мембрани [36].

З метою подолання стійкості біоплівки окрім пошуку таргетних молекул також розглядають можливість застосування неантимікробних препаратів, створення молекул, подібних до білків людини та мікроорганізмів, а також застосування вірусів бактерій – бактеріофагів.

*Активність неантимікробних препаратів відносно біоплівки бактерій.* Неантимікробні препарати, зокрема, нестероїдні протизапальні засоби, протипухлинні, антигельмінтні, гіполіпідемічні препарати в терапевтичних концентраціях окрім первинного фармакодинамічного ефекту здатні виявляти антимікробну дію щодо планктонних мікроорганізмів і біоплівки. Специфічна антибіоплівкова дія цих лікарських засобів пов'язана з порушенням рухливості й адгезії.

Так, антибіоплівкова активність виявлена також у муколітичного засобу N-ацетилцистеїну. Механізм антибіоплівкової активності зумовлений впливом на матрикс біоплівки (порушення синтезу екзополісахариду). Встановлено, що до дії N-ацетилцистеїну чутливі

як метицилін-чутливі, так і метицилін-резистентні штами *Staphylococcus epidermidis* [37]. Ацетилцистеїн збільшує ефективність цiproфлосацину відносно катетер-асоційованих біоплівок синьогнійної палички [38].

Саліцилова кислота та її похідні інгібують рухливість і плівкоутворення *P. aeruginosa* [38, 39], у терапевтичних дозах – запобігають адгезії бактерій, у разі збільшення концентрації – пригнічують синтез адгезинів *S. epidermidis*, продукцію фібрії і гемаглютиніну *E. coli* [38, 40, 41].

Протизапальний препарат диклофенак натрію виявляє широкий спектр антибактеріальної дії, зокрема й антибіоплівкову активність, пригнічує синтез факторів вірулентності та різні типи рухливості *P. aeruginosa* [42–44].

Ібупрофен характеризується активністю відносно біоплівки *S. aureus* і *E. coli*, пригнічує плівкоутворення на катетерах [44, 45] та значно зменшує адгезію *E. coli* до клітин епітелію сечових шляхів, що пов'язане з впливом на продукцію фібрії і зміною гідрофобності кишкової палички [40].

Протипухлинний засіб з групи антиметаболітів 5-фторурацил виявляє антимікробну дію відносно *S. aureus* і *S. epidermidis*, пригнічує синтез факторів вірулентності, рухливість і плівкоутворення *P. aeruginosa* та *E. coli*, застосовується для обробки катетерів у разі катетер-асоційованих інфекцій [18, 19].

Симвастатин (препарат, який знижує рівень холестерину та тригліцеридів) виявляє бактерицидну та бактеріостатичну активність щодо метицилін-чутливих (MSSA) і метицилін-резистентних (MRSA) штамів *S. aureus*, пригнічує адгезію, продукцію екзополісахаридів і плівкоутворення в стафілококів [46], проявляє антибіоплівкову активність відносно *P. aeruginosa* [18], *Candida spp.* і *Cryptococcus spp.* [47].

Нейролептик групи похідних фенотіазину – хлорпромазин здатен інгібувати ефлюксні помпи та плівкоутворення *E. coli*, *P. aeruginosa* та *S. aureus* [48].

*Взаємодія імунної системи та біоплівки.* Мікроорганізми в складі біоплівки характеризуються стійкістю до

ефекторів імунної системи організму. Позаклітинний матрикс біоплівки перешкоджає розпізнаванню патогенів, фагоцитозу та активації імунних клітин [49].

Імунна система макроорганізму характеризується складною взаємодією з біоплівками мікроорганізмів, сьогодні спостерігаються лише окремі випадки двостороннього «нападу» і «захисту», які неможливо спрогнозувати [50]. Клітини імунної системи здатні розпізнавати компоненти матриксу біоплівки *P. aeruginosa*, позаклітинну ДНК і сигнальні молекули QS – гомосеринлактони [51]. У дослідженнях *in vitro* встановлено, що лейкоцити здатні проникати всередину молодих і зрілих біоплівок *S. aureus* [52, 53], нейтрофіли – попереджувати плівкоутворення та руйнувати матрикс зрілих стафілококових біоплівок [50], макрофаги – активні відносно біоплівки *P. aeruginosa*, у матриксі яких відсутній альгінат [51].

З другого боку, імунна відповідь організму господаря може сприяти росту та дозріванню біоплівок, а також стати причиною пошкодження тканин макроорганізму. Наприклад, нейтрофіли адгезуються на поверхні біоплівки зі збереженням фагоцитарної активності, проте, фагоцитоз супроводжується зниженою інтенсивністю «респіраторного вибуху», що перешкоджає руйнуванню мікробних біоплівок і сприяє некрозу імунних клітин. Мікроорганізми можуть використовувати залишки некротизованих клітин як субстрат, що призводить до стимуляції плівкоутворення та збільшення кількості бактеріальних клітин.

Окрім імунної системи від негативної дії збудників організм людини захищають понад 100 антимікробних пептидів і білків у тканинах та органах, основними з яких є кателіцидини, дефензини, дермцидини, гепцидини, РНКазиди та гістатини [54, 55].

Так, кателіцидин LL-37 виявляє активність щодо бактерій і грибів, вірусів і паразитів; регулює імунну відповідь і загоювання ран; у низьких концентраціях пригнічує адгезію та плівкоутворення біоплівок стафілококів [56].

*Антимікробні пептиди.* Антимікробні пептиди характеризуються широким спектром активності, низькою частотою виникнення бактеріальної резистентності та специфічним механізмом дії, який включає утворення пор у цитоплазматичній мембрані. Їхня ефективність підтверджена в моделях *in vivo*, терапевтичне застосування забезпечується стабільністю в широкому діапазоні рН і температур, низькою токсичністю для еукаріотичних клітин.

Пептиди виявляють антибіоплівкову активність у низьких концентраціях, їхній механізм дії пов'язаний з впливом на адгезію та рухливість, із модуляцією імунної відповіді макроорганізму на формування біоплівок і впливом на систему QS. За взаємодії пептидів з поверхнею бактерій порушується міжклітинна комунікація, з компонентами матриксу – структура біоплівки. Антимікробні пептиди можуть впливати на еДНК, альгінат (компонент матриксу *P. aeruginosa*), PIA/PNAG і *Vap*-білок (компоненти матриксу *S. aureus*).

Сьогодні АМП вивчаються в доклінічних і клінічних випробуваннях для застосування за умов катетер-асоційованих і ранових інфекцій, а також муковісцидозу, а саме:

- даптоміцин (препарат «Кубіцин») – ліпопептид, зареєстрований в Україні в 2014 році для застосування в разі інфекцій, спричинених грампозитивними мікроорганізмами, ендокардиту, інфекцій шкіри та м'яких тканин, бактеріємії, у комбінованій терапії;
- оритаванцин, напівсинтетичний ліпоглікопептид застосовується в разі тяжких інфекційних процесів, викликаних грампозитивною флорою, активний відносно метицилінчутливих (MSSA), метицилінрезистентних (MRSA) і ванкоміцинрезистентних штамів (VRSA) *S. aureus*;
- оміганан – розробляється як препарат для застосування при дерматитах, акне, розацеа (фаза II і III);
- пексиганан – синтетичний пептид, був розроблений як новий місцевий антибіотик широкого спектра дії для лікування пацієнтів з легким і помірним перебігом інфекцій в осіб з син-

дромом діабетичної стопи (фаза III);  
– поліміксини – пептидні антибіотики, які використовуються як препарати останньої лінії за бактеріальних інфекцій, викликаних грамнегативними бактеріями [57, 58].

Пептидні антибіотики даптоміцин (ліпопептид) і тейкопланін (глікопептид) у дослідженнях *in vitro* показали синергічний ефект з антибіотиками відносно біоплівки, сформованих MRSA: даптоміцин з тейкопланіном, азитроміцином, лінезолідом і ципрофлоксацином; тейкопланін з ципрофлоксацином й азитроміцином. Синергічна дія пептидів та антибіотиків може бути зумовлена різними механізмами дії препаратів [59].

**Бактеріофаги.** Бактеріофаги є вірусами, які можуть інфікувати бактерії двома різними шляхами: літичним і лізогенним. Антибактеріальні властивості бактеріофагів пов'язують з літичним циклом, який закінчується загибеллю бактерій-господарів внаслідок лізису й вивільненням нових фагів. У лізогенному циклі генетичний матеріал фага вбудовується в бактеріальну хромосому (профаг) з наступним виживанням клітин-господарів [60].

Бактеріофаги по-іншому діють на бактеріальні біоплівки, ніж хімічні препарати або біоциди. За допомогою літичних ферментів бактеріофаги здатні швидко руйнувати клітинну стінку бактерій і проникати в біоплівки [61].

Механізми взаємодії бактеріофагів з біоплівками наступні:

– бактеріофаги реплікуються в клітинах-хазяїна, що призводить до локалізованого збільшення кількості бактеріофагів (ампліфікація). Розмножуючись всередині біоплівки та

усуваючи бактерії, що продукують EPS, бактеріофаги поступово її руйнують і зменшують потенціал для регенерації;

– бактеріофаги проникають і залишаються всередині клітин-персистерів, активуються після реверсії бактерій до метаболічно активного стану та призводять до їхньої загибелі [62];  
– віруси можуть вловлювати, інтерпретувати сигнали QS-системи (фаг VP882) та запускати літичний цикл у відповідь на певні хімічні сигнали [63].

Таким чином, проведений аналіз літературних джерел дозволив зробити висновок, що біоплівка є гетерогенною багатоклітинною структурою, стійкість якої до впливу зовнішніх факторів (у тому числі антимікробних речовин) визначається будовою позаклітинного матриксу, наявністю сигнальної системи (*Quorum sensing*), а також здатністю до переходу в метаболічно неактивний стан. Для підвищення ефективності антимікробної терапії біоплівкових інфекцій перспективними є речовини, які руйнують позаклітинний матрикс або підвищують його проникність, впливають на систему *Quorum sensing*, на метаболічно неактивні клітини або викликають їхню реверсію до активного стану. Нині здійснюється оцінка антибіоплівкової активності препаратів різних фармако-терапевтичних груп.

Цей огляд може бути підґрунтям для дослідників, які прагнуть досліджувати антибіоплівкові властивості нових речовин і розробляти потенційні лікарські засоби.

1. Gould I. M., Bal A. M. New antibiotic agents in the pipeline and how they can help overcome microbial resistance. *Virulence*. 2013. V. 4, № 2. P. 185–191.
2. Qin W., Panunzio M., Biondi S.  $\beta$ -Lactam antibiotics renaissance. *Antibiotics*. 2014. V. 3, № 2. P. 193–215.
3. Устинов В. А. Новый доклад ВОЗ по антибиотикорезистентности [Електронний ресурс]. *Український медичний часопис*. 2018. URL: <http://www.umj.com.ua/article/120095/novyj-doklad-voz-po-antibiotikorezistentnosti>
4. Салманов А. Г., Руденко А. В. Антимікробна резистентність провідних збудників інфекцій сечових шляхів у Києві (Україна). *International Journal of Antibiotics and Probiotics*. 2017. V. 1, № 2. P. 48–60.
5. European Union's action against antimicrobial resistance 2017 [Електронний ресурс]. URL: [https://ec.europa.eu/health/amr/antimicrobial-resistance\\_en](https://ec.europa.eu/health/amr/antimicrobial-resistance_en).

6. Thorpe K. E., Joski P., Johnston K. J. Antibiotic-resistant infection treatment costs have doubled since 2002, now exceeding \$2 billion annually. *Health Affairs*. 2018. – V. 37, № 4. P. 662–669.
7. Йовенко І. А., Балака І. В. Програма «Antimicrobial Stewardship» – стратегія антимікробного контролю в ОІТ в епоху антибіотикорезистентності. *Гострі та невідкладні стани у практиці лікаря*. 2017. № 5. С. 5–14.
8. Грузина В. Д. Коммуникативные сигналы бактерий. *Антибиотики и химиотерапия*. 2003. Т. 48, № 10. С. 32–39.
9. Sutherland I. W. The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. *Trends in microbiology*. 2001. V. 9, № 5. P. 222–227.
10. Пребиотическая коррекция при бактериальном вагинозе. А. Л. Тихомиров, В. В. Казенашев, С. И. Сарсания, К. С. Тускаев. *Медицинский совет*. 2017. № 2. С. 66–68.
11. Material properties of biofilms – a review of methods for understanding permeability and mechanics [Електронний ресурс]. N. Billings, A. Birjiniuk, T. S. Samad et al. *Reports on Progress in Physics*. 2015. V. 78, № 3. Art. 036601. 17 p. <https://doi.org/10.1088/0034-4885/78/3/036601>.
12. Irie Y., Parsek M. R. *Quorum sensing* and microbial biofilms. *Bacterial biofilms*: ed. T. Romeo. Berlin : Springer, 2008. P. 67–84.
13. *Quorum sensing* и коммуникация бактерий. И. А. Хмель, А. С. Белик, Ю. В. Зайцева, Н. Н. Данилова. *Вестник Московского университета. Серия 16. Биология*. 2008. № 1. С. 28–35.
14. Li Y. H., Tian X. *Quorum sensing* and bacterial social interactions in biofilms. *Sensors*. 2012. V. 12, № 3. P. 2519–2538.
15. Imperi F., Leoni L., Visca P. Antivirulence activity of azithromycin in *Pseudomonas aeruginosa* [Електронний ресурс]. *Frontiers in microbiology*. 2014. V. 5. P. 178. <https://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00178>.
16. Inhibition of *Pseudomonas aeruginosa quorum sensing* by subinhibitory concentrations of curcumin with gentamicin and azithromycin. S. Bahari, H. Zeighami, H. Mirshahabi et al. *Journal of global antimicrobial resistance*. 2017. V. 10. P. 21–28.
17. Aspirin is an efficient inhibitor of *quorum sensing*, virulence and toxins in *Pseudomonas aeruginosa*. S. A. El-Mowafy, K. H. El Galil, S. M. El-Messery, M. I. Shaaban. *Microbial pathogenesis*. 2014. V. 74. P. 25–32.
18. Drug repurposing as an alternative for the treatment of recalcitrant bacterial infections [Електронний ресурс]. A. Rangel-Vega, L. R. Bernstein, E. A. Mandujano Tinoco et al. *Frontiers in microbiology*. 2015. V. 6. Art. 282. <https://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2015.00282>.
19. Repurposing of anticancer drugs for the treatment of bacterial infections. V. W. C. Soo, B. W. Kwan, H. Quezada et al. *Current topics in medicinal chemistry*. 2017. V. 17, № 10. P. 1157–1176.
20. Abbas H. A., Shaldam M. A. Glyceryl trinitrate is a novel inhibitor of *quorum sensing* in *Pseudomonas aeruginosa*. *African health sciences*. 2016. V. 16, № 4. P. 1109–1117.
21. New life for an old drug: the anthelmintic drug niclosamide inhibits *Pseudomonas aeruginosa Quorum Sensing*. F. Imperi, F. Massai, C. R. Pillai et al. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2013. V. 57, № 2. P. 996–1005.
22. Wood T. K., Knebel S. J., Kwan B. W. Bacterial persister cell formation and dormancy. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013. V. 79, № 23. P. 7116–7121.
23. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat. Rev. Microbiol.* 2007. V. 5. P. 48–56.
24. Niepa T. H., Gilbert J. L., Ren D. Controlling *Pseudomonas aeruginosa* persister cells by weak electrochemical currents and synergistic effects with tobramycin. *Biomaterials*. 2012. V. 33, № 30. P. 7356–7365.
25. Harms A., Maisonneuve E., Gerdes K. Mechanisms of bacterial persistence during stress and antibiotic exposure [Електронний ресурс]. *Science*. 2016. V. 354, № 6318. aaf4268. <https://dx.doi.org/10.1126/science.aaf4268>.
26. Bacterial persistence by RNA endonucleases. E. Maisonneuve, L. J. Shakespeare, M. Jorgensen, K. Gerdes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2011. V. 108, № 32. P. 13206–13211.
27. Page R., Peti W. Toxin–antitoxin systems in bacterial growth arrest and persistence. *Nature chemical biology*. 2016. V. 12, № 4. P. 208–214.
28. Плакунов В. К., Стрелкова Е. А., Журина М. В. Персистенция и адаптивный мутагенез в биопленках. *Микробиология*. 2010. Т. 79, № 4. С. 447–458.
29. Specialized persister cells and the mechanism of multidrug tolerance in *Escherichia coli*. I. Keren, D. Shah, A. Spoering et al. *J. Bacteriol.* 2004. V. 186, № 24. P. 8172–8180.
30. Fisher R. A., Gollan B., Helaine S. Persistent bacterial infections and persister cells. *Nature Reviews Microbiology*. 2017. V. 15, № 8. P. 453–464.
31. Pyrazinamide inhibits trans-translation in *Mycobacterium tuberculosis*. W. Shi, X. Zhang, X. Jiang et al. *Science*. 2011. V. 333, № 6049. P. 1630–1632.



32. Enhanced respiration prevents drug tolerance and drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. C. Vilcheze, T. Hartman, B. Weinrick et al. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2017. V. 114, № 17. P. 4495–4500.
33. Hurdle J. G., Deshpande A. Bacterial persister cells tackled. *Nature*. 2018. V. 556, № 7699. P. 40–41.
34. The fatty acid signalling molecule cis-2-decenoic acid increases metabolic activity and reverts persister cells to an antimicrobial-susceptible state. C. N. Marques, A. Morozov, P. Planzos, H. M. Zelaya. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. V. 80, № 22. P. 6976–6991.
35. Reverting antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 persister cells by (Z)-4-bromo-5-(bromomethylene)-3-methylfuran-2(5H)-one [Электронный ресурс]. J. Pan, A. A. Bahar, H. Syed, D. Ren. *PLoS One*. 2012. V. 7, № 9. e45778. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045778>.
36. Engineering persister-specific antibiotics with synergistic antimicrobial functions. N. W., S. Schmidt Deshayes, S. Hawker et al. *ACS Nano*. 2014. V. 8, № 9. P. 8786–8793.
37. Kirmusaoglu S., Yurdugu S., Kocoglu M. E. The effect of N-acetylcysteine on growth and biofilm formation in *Staphylococcus epidermidis* strains. *Turk. J. Med. Sci.* 2012. V. 42, № 4. P. 689–694.
38. Evaluation of the combination of N-acetylcysteine and or sodium salicylate with ciprofloxacin on bacterial adhesion and biofilm formation on urinary catheters [Электронный ресурс]. A. A. Abd El-Aziz, T. El-Banna, F. I. Sonbol et al. *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents*. 2012. V. 2, № 1. 4 p. <https://doi.org/10.3823/708>.
39. Salicylic acid affects swimming, twitching and swarming motility in *Pseudomonas aeruginosa*, resulting in decreased biofilm formation. S. Chow, K. Gu, L. Jiang, A. Nassour. *Journal of experimental microbiology and immunology*. 2011. V. 15. P. 22–29.
40. Zimmermann P., Curtisa N. Antimicrobial effects of antipyretics [Электронный ресурс]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 2017. V. 61, № 4. e02268-16. <https://doi.org/10.1128/AAC.02268-16>.
41. The effect of aspirin on adherence of slime-producing, coagulase-negative *Staphylococci* to vascular grafts. M. K. Demirag, S. Esen, M. Zivalioglu et al. *Ann. Surg.* 2007. V. 21, № 4. P. 464–467.
42. Ulusoy S., Bosgelmez-Tinaz G. Nonsteroidal antiinflammatory drugs reduce the production of *Quorum Sensing* regulated virulence factors and swarming motility in human pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *Drug Research*. 2013. V. 63, № 8. P. 409–413.
43. Abbas H. A. Inhibition of virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa* by diclofenac sodium. *Roum. Arch. Microbiol. Immunol.* 2015. V. 74, № 3–4. P. 79–85.
44. Reslinski A., Dabrowiecki S., Glowacka K. The impact of diclofenac and ibuprofen on biofilm formation on the surface of polypropylene mesh. *Hernia*. 2015. V. 19, № 2. P. 179–185.
45. Anti-biofilm activity of ibuprofen and diclofenac against some biofilm producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* uropathogens. R. Baldiris, V. Teheran, R. Vivas-Reyes et al. *African Journal of Microbiology Research*. 2016. V. 10, № 40. P. 1675–1684.
46. Statins and antimicrobial effects: simvastatin as a potential drug against *Staphylococcus aureus* biofilm [Электронный ресурс]. T. S. Graziano, M. C. Cuzzullin, G. C. Franco et al. *PLoS one*. 2015. V. 10, № 5. e0128098. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128098>.
47. Simvastatin inhibits planktonic cells and biofilms of *Candida* and *Cryptococcus species*. R. S. N. Brillhantea, E. P. Caetano, J. S. Oliveira et al. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. 2015. V. 19, № 5 P. 459–465.
48. Inhibition of multidrug efflux as a strategy to prevent biofilm formation. S. Baugh, C. R. Phillips, A. S. Ekanayaka et al. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2013. V. 69, № 3. P. 673–681.
49. Biofilm switch and immune response determinants at early stages of infection. J. Valle, C. Solano, B. Garcia et al. *Trends in microbiology*. 2013. V. 21, № 8. P. 364–371.
50. Чеботарь И. В. Механизмы антибиопленочного иммунитета. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2012. Т. 67, № 12. С. 22–29.
51. How biofilms evade host defenses [Электронный ресурс]. E. Roilides, M. Simitsopoulou, A. Katragkou, T. J. Walsh. *Microbiology spectrum*. 2015. V. 3, № 3. – MB-0012. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MB-0012-2014>.
52. Глушанова Н. А., Блинов А. И., Алексеева Н. Б. Бактериальные биопленки в инфекционной патологии человека. Медицина в Кузбассе. 2015. Спецвыпуск 2. С. 30–35.
53. Targeting the bacterial protective armour; challenges and novel strategies in the treatment of microbial biofilm. N. Kamaruzzaman, L. Tan, K. Mat Yazid et al. *Materials*. 2018. V. 11, № 9. P. 1705.
54. Wang G., Li X., Wang Z. APD2: the updated antimicrobial peptide database and its application in peptide design. *Nucleic Acids Res*. 2009. V. 37, Suppl. 1. P. D933–D937.
55. Wang G. Human antimicrobial peptides and proteins. *Pharmaceuticals*. 2014. V. 7, № 5. P. 545–594.
56. Mishra B., Golla R. M., Lau K. Anti-staphylococcal biofilm effects of human cathelicidin peptides. *ACS medicinal chemistry letters*. 2015. V. 7, № 1. P. 117–121.
57. Chung P. Y., Khanum R. Antimicrobial peptides as potential anti-biofilm agents against multidrug-resistant bacteria. *Journal of microbiology, immunology and infection*. 2017. V. 50, № 4. P. 405–410.

58. *Batoni G., Maisetta G., Esin S.* Antimicrobial peptides and their interaction with biofilms of medically relevant bacteria. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*. 2016. V. 1858, № 5. P. 1044–1160.
59. *Mataraci E., Dosler S.* *In vitro* activities of antibiotics and antimicrobial cationic peptides alone and in combination against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* biofilms. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2012. V. 56, № 12. P. 6366–6371.
60. Bacteriophages as weapons against bacterial biofilms in the food industry [Електронний ресурс]. D. Gutierrez, L. Rodriguez-Rubio, B. Martinez et al. *Frontiers in microbiology*. 2016. V. 7. P. 825. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00825>.
61. Дрюккер В. В., Горшкова А. С. Бактериофаги и их функционирование в биопленках. *Известия Иркутского государственного университета. Серия: Биология. Экология*. 2012. Т. 5, № 3. С. 8–16.
62. Bacteriophages and Biofilms. D. R. Harper, H. M. R. T. Parracho, J. Walker et al. *Antibiotics*. 2014. V. 3, № 3. P. 270–284.
63. *Silpe J. E., Bassler B. L.* A host-produced *quorum-sensing* autoinducer controls a phage lysis-lysogeny decision. *Cell*. 2019. V. 176, № 1–2. P. 268–280.

### **Н. О. Вринчану, Д. М. Дудікова, Н. І. Гринчук, В. В. Недашківська** **Біоплівки. Сучасний стан і перспективи антимікробної терапії**

Огляд присвячений аналізу сучасних даних щодо механізмів стійкості біоплівок до антимікробних засобів та пошуку нових активних речовин з антибіоплівковою активністю.

Проведений аналіз літературних джерел показав, що біоплівка є гетерогенною багатоклітинною структурою, стійкість якої до впливу зовнішніх факторів (у т. ч. антимікробних речовин) визначається будовою позаклітинного матриксу, наявністю сигнальної системи (*Quorum sensing*), а також здатністю до переходу в метаболічно неактивний стан. Для підвищення ефективності антибіоплівкової терапії як перспективні розглядають речовини, які: 1) руйнують позаклітинний матрикс або підвищують його проникність; 2) впливають на систему *Quorum sensing* і синтез аутоіндукторів; 3) впливають на метаболічно неактивні клітини або викликають їхню реверсію до активного стану. З метою подолання стійкості біоплівок окрім пошуку таргетних молекул також розглядають можливість застосування не антимікробних препаратів, створення молекул, подібних до білків людини та мікроорганізмів, а також застосування вірусів бактерій – бактериофагів.

Цей огляд може бути підґрунтям для дослідників, які прагнуть вивчати антибіоплівкові властивості нових речовин і розробляти потенційні лікарські засоби.

*Ключові слова:* біоплівки, антибіотикорезистентність, *Quorum sensing*, персистери

### **Н. А. Вринчану, Д. М. Дудикова, Н. И. Гринчук, В. В. Недашкова** **Биопленки. Современное состояние и перспективы антимикробной терапии**

Обзор посвящен анализу современных данных о механизмах устойчивости биопленок к антимикробным средствам и поиску новых веществ, активных в отношении биопленок.

Проведенный анализ литературных источников показал, что биопленка является гетерогенной многоклеточной структурой, устойчивость которой к внешним факторам (в том числе антимикробным веществам) определяется строением внеклеточного матрикса, наличием сигнальной системы (*Quorum sensing*), а также способностью переходить в метаболически неактивное состояние. Для повышения эффективности антибиопленочной терапии как перспективные рассматривают вещества, которые: 1) разрушают внеклеточный матрикс либо повышают его проницаемость; 2) ингибируют систему *Quorum sensing* и влияют на синтез аутоиндукторов; 3) влияют на метаболически неактивные клетки либо вызывают их реверсию в активное состояние. С целью преодоления устойчивости биопленок кроме таргетных молекул также рассматривают возможность применения не антимикробных препаратов, создание молекул, подобных белкам человека и микроорганизмов, а также использование вирусов бактерий – бактериофагов.

Данный обзор адресован исследователям, которые изучают антибиопленочные свойства новых веществ и разрабатывают потенциальные лекарственные средства.

*Ключевые слова:* биопленки, антибиотикорезистентность, *Quorum sensing*, персистеры

### **Н. О. Vrynchanu, D. M. Dudikova, N. I. Hrynchuk, V. V. Nedashkivska** **Biofilms. The current status and prospects of antimicrobial therapy**

The review focuses on the analysis of current data on the mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents and the search for new substances with antibiofilm activity.

Based on data in the literature we showed that biofilm is heterogeneous multicellular structure, whose resistance to external factors (including antimicrobial substances) is due to the structure of the extracellular matrix, the presence of a signal system (*Quorum sensing*), and the level of metabolic activity inside the biofilm. The effectiveness of antibiofilm therapy could be increased by substances that (1) destroy the extracellular matrix or increase its permeability; (2) inhibit the *Quorum sensing* system and affect the

---

---

synthesis of autoinductors; (3) are active against the metabolically inactive cells or cause their reversion to an active state. In order to overcome the resistance of bacterial biofilms the targeted molecules are used. In addition, other means are also being considered: the non-antimicrobial agents, the molecules similar to human proteins and microorganisms, and the bacteriophages.

This review can serve as a useful starting point for researchers who study the antibiofilm properties of new substances and develop potential drugs.

*Key words: biofilms, antibiotic resistance, Quorum sensing, persisters*

---

Надійшла: 30 серпня 2019 р.

Прийнята до друку: 16 жовтня 2019 р.

---

**Контактна особа:** Вринчану Ніна Олексіївна, доктор медичних наук, ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМНУ», буд. 14, вул. Антона Цедіка, м. Київ, 03057. Тел.: + 38 0 44 456 78 62.