

ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

<https://doi.org/10.35339/msz.2020.89.04.01>

УДК 579.262:616.24-002-053.2-085.33

*Г.О. Ісаєва, М.М. Мішина, Ю.А. Мозгова, М.О. Гончарь,
О.Л. Логвінова, М.А. Басюк**

*Харківський національний медичний університет, Україна
Харківська обласна дитяча клінічна лікарня, Україна

ВПЛИВ АНТИБАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ НА БІОПЛІВКОВУ ФОРМУ ІСНУВАННЯ МІКРООРГАНІЗМІВ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ДІТЕЙ ІЗ ПОЗАЛІКАРНЯНОЮ ПНЕВМОНІЄЮ

Вивчали дію антибактеріальних препаратів на біоплівкові форми мікроорганізмів. Були використані штами *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, які були виділені від дітей із позалікарняною пневмонією. Здатність мікроорганізмів до формування біоплівок вивчали у плоскодонних планшетах. Цефтріаксон, амікацин, кларитроміцин та левофлоксацин були відібрані для дослідження. Чутливість збудників позалікарняних пневмоній визначали методом серійних розведень. Установлено, що всі штами мікроорганізмів, виділених від хворих, були здатні формувати первинні та вторинні біоплівки. При порівнянні оптичної щільності (ОЩ) *S. aureus*, *S. pneumoniae* та *P. aeruginosa* після дії антибактеріальних препаратів (АБП) на сформовану первинну біоплівку та ОЩ первинної біоплівки *S. aureus*, *S. pneumoniae* та *P. aeruginosa* без дії АБП виявлено, що у відібраних розведеннях товщина первинної біоплівки під дією АБП була менше товщини первинної біоплівки без дії АБП. При порівнянні ОЩ *S. aureus*, *S. pneumoniae* після дії АБП на сформовану вторинну біоплівку та ОЩ вторинної біоплівки *S. aureus*, *S. pneumoniae* без дії АБП виявлено, що в обраних розведеннях товщина вторинної біоплівки під дією АБП була більше товщини вторинної біоплівки без дії АБП.

Ключові слова: біоплівки, антибактеріальні препарати, позалікарняна пневмонія, діти.

Вступ

Позалікарняна пневмонія є одним з основних захворювань органів дихання в дітей, що викликає високий рівень захворюваності та смертності. Для запобігання наслідкам треба знати основні збудники та вміти підібрати адекватне антибактеріальне лікування. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) та *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) вважаються одними з основних збудників позалікарняної пневмонії, за думкою авторів [1].

Антибіотикорезистентність залишається однією з головних проблем сьогодення, що спонукає змінювати методи прийому та дозування антибактеріальних препаратів. Основний критерій біоплівок – їхня резистентність до ерадикації, або толерантність до широкого спектра антибактеріальних препаратів, захисних механізмів макроорганізму, стресових умов зовнішнього середовища. Завдяки цьому біоплівки персистують як у зовнішньому середовищі, так і в організмі людини. Мікро-

організми в біоплівковій формі існування можуть виживати у концентраціях антибактеріальних препаратів та біоцидів, що у 100–1000 разів перевищують концентрації планктонних форм [2, 3].

Багато механізмів сприяють толерантності мікроорганізмів у біоплівковій формі до протимікробних препаратів [3–6]. Екзополісахариди всередині матриксу біоплівок можуть приєднуватись до антибактеріальних препаратів завдяки заряду та гідрофобним взаємодіям, що лімітує їхню внутрішньоклітинну пенетрацію. Наприклад, дифузія позитивно заряджених аміноглікозидів може бути лімітована екзополісахаридами *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) [3, 7, 8].

Центр з контролю захворюваності та профілактики та Всесвітня організація охорони здоров'я підкреслюють серйозність загрози здоров'ю антибіотикорезистентних штамів *P. aeruginosa* та закликають до розробки нових антибактеріальних методів лікування *P. aeruginosa*. Крім того, урахуовуючи проблеми толерантності біоплівкоутворюючих ізолятів *P. aeruginosa*, актуальним є вибір лікування, спрямованого на біоплівки мікроорганізму [9].

Мета дослідження – вивчення впливу антибактеріальних препаратів на біоплівкову форму мікроорганізмів, збудники позалікарняних пневмоній у дітей.

Матеріал і методи

Штами мікроорганізмів були відібрані від дітей віком до 18 років, які знаходились на лікуванні в пульмонологічному відділенні та відділенні реанімації в Харківській обласній дитячій клінічній лікарні з діагнозом позалікарняна пневмонія. У дослідженні було використано 51 штамп мікроорганізмів, з них: *Staphylococcus aureus* – 13, *Streptococcus pneumoniae* – 27, *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) – 6, *Pseudomonas aeruginosa* – 5.

Здатність мікроорганізмів до формування біоплівок вивчали у плоскодонних планшетах. Нічні культури штамів розводили свіжим поживним середовищем 1:100. По 150 мкл отриманих суспензій стерильно вносили в лунки планшетів (у 3 повторах). Для контролю у 3 лунки вносили стерильне поживне середовище. Планшети розміщували в термостаті при температурі 28 °С у вологій камері на 24 години. Оптичну щільність (ОЩ) добогих

культур визначали на фотометрі Multiskan Ex 350 при довжині хвилі 540 нм. Після цього вміст лунок обережно відсмоктували та заповнювали 150 мкл дистильованої води та 15 мкл 1%-вого спиртового розчину кристалвіолету. Лунки, які були заповнені барвником, інкубували при кімнатній температурі впродовж 45 хвилин. Потім барвник акуратно відсмоктували та лунки промивали три рази дистильованою водою. У відмиті від незв'язаної фарби лунки вносили по 250 мкл етилового спирту та залишали на 45 хвилин при кімнатній температурі. Інтенсивність забарвлення спирту в лунках планшетів оцінювали на фотометрі при 540 нм [10]. Для експерименту були відібрані антибактеріальні препарати (АБП): цефтріаксон, левофлоксацин (використання тільки за умов тяжкого перебігу хвороби та переважання користі від препарату над побічними діями й наслідками, а також за відсутності в анамнезі хворого анемії), кларитроміцин, амікацин на підставі використання в лікарні, а також відповідно до рекомендацій [11–13]. Чутливість збудників позалікарняних пневмоній визначали методом серійних розведень із використанням бульйону Мюллера–Хінтона [14]. Дослідження спочатку було проведено у пробірках та визначено мінімальну інгібуючу концентрацію, потім мікрометодом – у плоскодонних планшетах. Було відібрано 12 концентрацій (1-ша – максимальна, 12-та – мінімальна). Готували змиви культур (*S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) із м'ясопептонного бульйону, мутність 0,5 McFarland та суспензію *S. pneumoniae* з кров'яного агару у бульйоні Мюллера–Хінтона. Отриману суспензію з мутністю 0,5 McFarland розводили 1:100. Вносили 50 мкл культури у стерильні лунки планшетів + 150 мкл стерильного бульйону + 50 мкл антибактеріального препарату (відповідної концентрації).

Було обчислено середнє та стандартне відхилення. Для порівняння ОЩ біоплівок, що формували мікроорганізми під дією АБП та без неї, використовували t-test. Статистично значущими результати вважали лише за $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Усі штами мікроорганізмів, виділених від хворих, були здатні формувати первинні та вторинні біоплівки. При порівнянні ОЩ *S. aureus* після дії АБП на сформовану первинну біоплівку та ОЩ первинної біоплівки

S. aureus без дії АБП виявлено, що товщина первинної біоплівки під дією АБП була менше товщини первинної біоплівки без дії АБП у таких розведеннях: цефтріаксону – у 2-му (t-test=3,14; p<0,05) та 5-му (t-test=2,12; p=0,04) розведеннях; левофлоксацину – у 1-му (t-test=2,48; p=0,02), 2-му (t-test=2,85; p<0,05), 5-му (t-test=3,68; p<0,05), 7-му (t-test=3,32; p<0,05), 8-му (t-test=2,91; p<0,05), 9-му (t-test=3,44; p<0,05) та 11-му (t-test=2,36; p=0,03); амікацину – у 5-му (t-test=2,07; p=0,049), 11-му (t-test=2,85; p<0,05) та 12-му (t-test=2,72; p=0,01); кларитроміцину – статистично значущих результатів не було; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 1-му (t-test=3,37; p<0,05), 3-му (t-test=3,49; p<0,05), 4-му (t-test=2,45; p=0,02), 5-му (t-test=2,48; p=0,02) та 7-му (t-test=2,11; p=0,045) розведеннях.

Було виявлено мінімальне значення ОЩ *S. aureus* після дії АБП на сформовану первинну біоплівку: цефтріаксону – у 6-му розведенні; левофлоксацину – у 5-му розведенні; амікацину – у 11-му розведенні; кларитроміцину – у 11-му розведенні; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 3-му розведенні (таблиця).

При порівнянні ОЩ *S. aureus* після дії АБП на сформовану вторинну біоплівку та ОЩ вторинної біоплівки *S. aureus* без дії АБП виявлено, що товщина вторинної біоплівки під дією АБП була більше товщини вторинної біоплівки без дії АБП у таких розведеннях: цефтріаксону – у 1-му (t-test=3,24; p<0,05), 2-му (t-test=2,22; p=0,04), 3-му (t-test=2,57; p=0,02), 5-му (t-test=2,99; p<0,05), 6-му (t-test=2,28; p=0,03),

7-му (t-test=2,12; p=0,04), 10-му (t-test=2,40; p=0,02), 11-му (t-test=3,41; p<0,05) та 12-му (t-test=4,10; p<0,05); левофлоксацину – у 1-му (t-test=2,56; p=0,02), 3-му (t-test=2,42; p=0,02), 4-му (t-test=2,25; p=0,03), 5-му (t-test=2,54; p=0,02), 6-му (t-test=2,28; p=0,03), 8-му (t-test=2,30; p=0,03), 9-му (t-test=2,25; p=0,03), 10-му (t-test=2,38; p=0,03), 11-му (t-test=3,23; p<0,05) та 12-му (t-test=2,91; p<0,05); амікацину – у 1-му (t-test=2,10; p=0,046), 2-му (t-test=2,12; p=0,04), 3-му (t-test=2,48; p=0,02), 4-му (t-test=3,86; p<0,05), 5-му (t-test=3,28; p<0,05), 6-му (t-test=3,67; p<0,05), 7-му (t-test=4,30; p<0,05), 8-му (t-test=3,67; p<0,05), 9-му (t-test=3,42; p<0,05), 10-му (t-test=3,02; p<0,05), 11-му (t-test=2,74; p=0,01) та 12-му (t-test=3,60; p<0,05); кларитроміцину – у 1-му (t-test=3,13; p<0,05), 2-му (t-test=3,42; p<0,05), 3-му (t-test=5,57; p<0,05), 4-му (t-test=7,07; p<0,05), 5-му (t-test=4,74; p<0,05), 6-му (t-test=4,82; p<0,05), 7-му (t-test=4,80; p<0,05), 8-му (t-test=3,90; p<0,05), 9-му (t-test=3,65; p<0,05), 10-му (t-test=2,66; p=0,01), 11-му (t-test=3,88; p<0,05) та 12-му (t-test=4,48; p<0,05); комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 1-му (t-test=2,80; p<0,05), 2-му (t-test=2,66; p=0,01), 3-му (t-test=3,19; p<0,05), 4-му (t-test=2,45; p=0,02), 9-му (t-test=3,12; p<0,05), 10-му (t-test=3,60; p<0,05), 11-му (t-test=3,35; p<0,05) та 12-му (t-test=5,03; p<0,05).

Було виявлено мінімальне значення ОЩ *S. aureus* після дії АБП на сформовану вторинну біоплівку: цефтріаксону – у 4-му розведенні; левофлоксацину – у 7-му розведенні; амікацину – у 3-му розведенні; кларитроміцину – у 3-му розведенні.

Мінімальне значення оптичної щільності мікроорганізмів після дії антибактеріальних препаратів на сформовану первинну і вторинну біоплівку, од. оц. (Mean±Std. Dev.)

Антибактеріальні препарати	<i>S. aureus</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>
<i>Первинна біоплівка</i>				
Цефтріаксон	0,75±0,40	0,35±0,14	1,05±0,58	1,71±0,89
Левофлоксацин	0,52±0,11	0,34±0,03	1,05±0,28	1,77±1,16
Амікацин	0,62±0,19	0,66±0,04	1,25±0,23	1,98±1,21
Кларитроміцин	1,20±0,54	0,96±0,09	1,39±0,45	2,35±0,94
Цефтріаксон + кларитроміцин	0,47±0,16	0,40±0,10	1,16±0,51	1,81±0,61
<i>Вторинна біоплівка</i>				
Цефтріаксон	1,05±0,59	0,57±0,11	0,75±0,36	0,76±0,34
Левофлоксацин	1,29±1,03	0,79±0,22	0,91±0,21	1,44±0,13
Амікацин	0,69±0,07	0,78±0,19	0,67±0,13	0,98±0,45
Кларитроміцин	1,32±0,53	0,86±0,20	0,83±0,13	1,76±0,48
Цефтріаксон + кларитроміцин	0,51±0,17	0,45±0,04	1,08±0,72	0,70±0,15

ну – у 10-му розведенні; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 6-му розведенні (таблиця).

При порівнянні ОЩ *S. pneumoniae* після дії АБП на сформовану первинну біоплівку та ОЩ первинної біоплівки *S. pneumoniae* без дії АБП виявлено, що товщина первинної біоплівки під дією АБП була менше товщини первинної біоплівки без дії АБП у таких розведеннях: цефтріаксону – у 1-му (t-test=3,09; p<0,05), 3-му (t-test=2,52; p=0,01), 4-му (t-test=2,96; p<0,05), 5-му (t-test=2,65; p=0,01), 6-му (t-test=3,90; p<0,05), 7-му (t-test=4,12; p<0,05), 8-му (t-test=4,17; p<0,05), 9-му (t-test=3,92; p<0,05), 10-му (t-test=2,26; p=0,03), 11-му (t-test=2,22; p=0,03) розведеннях; левофлоксацину – у 1-му (t-test=2,10; p=0,04), 2-му (t-test=2,32; p=0,02), 3-му (t-test=2,37; p=0,02), 4-му (t-test=2,98; p<0,05), 5-му (t-test=3,00; p<0,05), 6-му (t-test=3,24; p<0,05), 7-му (t-test=4,95; p<0,05), 8-му (t-test=3,80; p<0,05), 9-му (t-test=3,36; p<0,05), 10-му (t-test=2,94; p<0,05) та 11-му (t-test=4,35; p<0,05); амікацину – у 1-му (t-test=2,88; p<0,05), 2-му (t-test=2,22; p=0,03), 9-му (t-test=2,38; p=0,02), 10-му (t-test=3,21; p<0,05) та 11-му (t-test=3,55; p<0,05); кларитроміцину – у 2-му (t-test=2,06; p=0,04); комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 1-му (t-test=4,22; p<0,05), 2-му (t-test=2,74; p<0,05), 3-му (t-test=4,18; p<0,05), 4-му (t-test=4,25; p<0,05), 5-му (t-test=2,83; p<0,05), 6-му (t-test=3,59; p<0,05), 7-му (t-test=3,84; p<0,05), 8-му (t-test=3,15; p<0,05) та 11 (t-test=2,11; p=0,04) розведеннях.

Було виявлено мінімальне значення ОЩ *S. pneumoniae* після дії АБП на сформовану первинну біоплівку: цефтріаксону – у 7-му розведенні; левофлоксацину – у 7-му розведенні; амікацину – у 11-му розведенні; кларитроміцину – у 2-му розведенні; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 1-му розведенні (таблиця).

При порівнянні ОЩ *S. pneumoniae* після дії АБП на сформовану вторинну біоплівку та ОЩ вторинної біоплівки *S. pneumoniae* без дії АБП виявлено, що товщина вторинної біоплівки під дією АБП була більше товщини вторинної біоплівки без дії АБП у таких розведеннях: цефтріаксону – у 1-му (t-test=2,64; p=0,01), 2-му (t-test=2,90; p<0,05), 3-му (t-test=2,23; p=0,03), 4-му (t-test=2,49; p=0,02), 5-му (t-test=2,29; p=0,03), 6-му (t-test=2,05; p=0,045),

10-му (t-test=2,68; p<0,05), 11-му (t-test=3,97; p<0,05) та 12-му (t-test=3,95; p=0,0002) розведеннях; левофлоксацину – у 1-му (t-test=3,36; p<0,05), 2-му (t-test=2,70; p<0,05), 3-му (t-test=2,42; p=0,02), 4-му (t-test=2,56; p=0,01), 5-му (t-test=2,54; p=0,01), 6-му (t-test=2,72; p<0,05), 8-му (t-test=3,12; p<0,05), 9-му (t-test=2,86; p<0,05), 10-му (t-test=2,72; p<0,05), 11-му (t-test=2,65; p=0,01) та 12-му (t-test=3,11; p<0,05); амікацину – у 2-му (t-test=2,66; p=0,01), 3-му (t-test=2,60; p=0,01), 5-му (t-test=2,03; p=0,047), 7-му (t-test=2,08; p=0,04), 8-му (t-test=3,00; p<0,05), 9-му (t-test=2,75; p<0,05), 10-му (t-test=2,98; p<0,05), 11-му (t-test=3,54; p<0,05) та 12-му (t-test=2,88; p<0,05); кларитроміцину – у 1-му (t-test=2,31; p=0,02), 2-му (t-test=2,34; p=0,02), 3-му (t-test=2,63; p=0,01), 4-му (t-test=2,30; p=0,03), 5-му (t-test=2,62; p=0,01), 6-му (t-test=7,38; p<0,05), 7-му (t-test=3,42; p<0,05), 8-му (t-test=8,79; p<0,05), 9-му (t-test=4,50; p<0,05), 10-му (t-test=4,29; p<0,05), 11-му (t-test=3,92; p<0,05) та 12-му (t-test=4,12; p<0,05); комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 5-му (t-test=2,57; p=0,01), 9-му (t-test=2,79; p<0,05), 10-му (t-test=3,36; p<0,05), 11-му (t-test=3,91; p<0,05) та 12-му (t-test=6,00; p<0,05).

Було виявлено мінімальне значення ОЩ *S. pneumoniae* після дії АБП на сформовану вторинну біоплівку: цефтріаксону – у 7-му розведенні; левофлоксацину – у 7-му розведенні; амікацину – у 5-му розведенні; кларитроміцину – у 2-му розведенні; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 7-му розведенні (таблиця).

При порівнянні ОЩ *K. pneumoniae* після дії АБП на сформовану первинну біоплівку та ОЩ первинної біоплівки *K. pneumoniae* без дії АБП статистично значущих результатів не виявлено.

Було виявлено мінімальне значення ОЩ *K. pneumoniae* після дії АБП на сформовану первинну біоплівку: цефтріаксону – у 8-му розведенні; левофлоксацину – у 7-му розведенні; амікацину – у 10-му розведенні; кларитроміцину – у 7-му розведенні; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 6-му розведенні (таблиця).

При порівнянні ОЩ *K. pneumoniae* після дії АБП на сформовану вторинну біоплівку та ОЩ вторинної біоплівки *K. pneumoniae* без дії АБП статистично значущих результатів не виявлено.

Було виявлено мінімальне значення ОЩ *K. pneumoniae* після дії АБП на сформовану вторинну біоплівку: цефтріаксону – у 8-му розведенні; левофлоксацину – у 3-му розведенні; амікацину – у 10-му розведенні; кларитроміцину – у 11-му розведенні; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 6-му розведенні (таблиця).

При порівнянні ОЩ *P. aeruginosa* після дії АБП на сформовану первинну біоплівку та ОЩ первинної біоплівки *P. aeruginosa* без дії АБП виявлено, що товщина первинної біоплівки під дією АБП була менше товщини первинної біоплівки без дії АБП у таких розведеннях: цефтріаксону – у 6-му (t-test=2,47; p=0,04) та 10-му (t-test=2,39; p=0,04) розведеннях; левофлоксацину – статистично значущих результатів не було; амікацину – статистично значущих результатів не було; кларитроміцину – статистично значущих результатів не було; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 7-му (t-test=2,36; p=0,045), 9-му (t-test=2,45; p=0,04) та 12-му (t-test=3,26; p=0,01) розведеннях.

Було виявлено мінімальне значення ОЩ *P. aeruginosa* після дії АБП на сформовану первинну біоплівку: цефтріаксону – у 8-му розведенні; левофлоксацину – у 7-му розведенні; амікацину – у 9-му розведенні; кларитроміцину – у 9-му розведенні; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 9-му розведенні (таблиця).

При порівнянні ОЩ *P. aeruginosa* після дії АБП на сформовану вторинну біоплівку та ОЩ вторинної біоплівки *P. aeruginosa* без дії АБП статистично значущих результатів не було.

Було виявлено мінімальне значення ОЩ *P. aeruginosa* після дії АБП на сформовану вторинну біоплівку: цефтріаксону – у 7-му розведенні; левофлоксацину – у 11-му розведенні; амікацину – у 1-му розведенні; кларитроміцину – у 11-му розведенні; комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин) – у 9-му розведенні (таблиця).

При дії АБП на сформовану як первинну, так і вторинну біоплівку *S. aureus* найменшу ОЩ (0,47 та 0,51 од. ош. відповідно) було виявлено у комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин).

При дії АБП на сформовану первинну біоплівку *S. pneumoniae* найменшу ОЩ (0,34 од. ош.)

було виявлено при дії левофлоксацином (0,34 од. ош.) та цефтріаксоном (0,35 од. ош.). При дії АБП на сформовану вторинну біоплівку *S. pneumoniae* найменшу ОЩ (0,45 од. ош.) було виявлено у комбінації препаратів (цефтріаксон + кларитроміцин).

При дії АБП на сформовану первинну біоплівку *K. pneumoniae* найменшу ОЩ (1,05 од. ош.) було виявлено при дії цефтріаксону та левофлоксацину. При дії АБП на сформовану вторинну біоплівку *K. pneumoniae* найменшу ОЩ (0,67 од. ош.) було виявлено за дії амікацину.

При дії АБП на сформовану первинну біоплівку *P. aeruginosa* найменшу ОЩ було виявлено в цефтріаксону (1,71 од. ош.) та левофлоксацину (1,77 од. ош.). При дії АБП на сформовану вторинну біоплівку *P. aeruginosa* найменшу ОЩ (0,67 од. ош.) було виявлено у комбінації цефтріаксон + кларитроміцин (0,70 од. ош.) та цефтріаксону (0,76 од. ош.).

Висновки

1. При порівнянні оптичної щільності *S. aureus*, *S. pneumoniae* та *P. aeruginosa* після дії антибактеріальних препаратів на сформовану первинну біоплівку та оптичної щільності первинної біоплівки без дії антибактеріальних препаратів виявлено, що в досліджуваних розведеннях товщина первинної біоплівки під дією антибактеріальних препаратів була менше товщини первинної біоплівки без їхньої дії.

2. У перші дні виникнення позалікарняної пневмонії, коли йде процес формування первинної біоплівки, викликаной *S. aureus*, рекомендовано прийом комбінації цефалоспоринів III покоління в поєднанні з макролідами.

3. У перші дні виникнення позалікарняної пневмонії, коли йде процес формування первинної біоплівки, викликаной *S. pneumoniae*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, рекомендовано прийом цефалоспоринів III покоління або фторхінолонів III покоління.

4. При порівнянні оптичної щільності *S. aureus*, *S. pneumoniae* після дії антибактеріальних препаратів на сформовану вторинну біоплівку та оптичної щільності вторинної біоплівки без дії антибактеріальних препаратів виявлено, що в обраних розведеннях товщина вторинної біоплівки під дією антибактеріальних препаратів була більше товщини вторинної біоплівки без їхньої дії.

Список літератури

1. Grousd J. A. Host-pathogen interactions in Gram-Positive bacterial pneumonia / J. A. Grousd, H. E. Rich, J. F. Alcorn // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2019. – Vol. 32, issue 3. – P. e00107–18.
2. Survival strategies of infectious biofilms / C. A. Fux, J. W. Costerton, P. S. Stewart, P. Stoodley // *Trends in Microbiology*. – 2005. – Vol. 13, issue 1. – P. 34–40.
3. Microbial biofilms in pulmonary and critical care diseases / A. A. Boisvert, M. P. Cheng, D. C. Sheppard, D. Nguyen // *Annals of the American Thoracic Society*. – 2016. – Vol. 13, issue 9. – P. 1615–1623.
4. Van Acker H. Molecular mechanisms of antimicrobial tolerance and resistance in bacterial and fungal biofilms / H. van Acker, P. Van Dijck, T. Coenye // *Trends in Microbiology*. – 2014. – Vol. 22, issue 6. – P. 326–333.
5. Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies / C. de la Fuente-Nunez, F. Reffuveille, L. Fernandez, R. E. W. Hancock // *Current Opinion in Microbiology*. – 2013. – Vol. 16, issue 5. – P. 580–589.
6. Mechanisms of *Candida* biofilm drug resistance / H. T. Taff, K. F. Mitchell, J. A. Edward, D. R. Andes // *Future Microbiology*. – 2013. – Vol. 8, issue 10. – P. 1325–1337.
7. The pel polysaccharide can serve a structural and protective role in the biofilm matrix of *Pseudomonas aeruginosa* / K. M. Colvin, V. D. Gordon, K. Murakami [et al.] // *PLoS Pathogens*. – 2011. – Vol. 7, issue 1. – P. e1001264.
8. Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms / W. C. Chiang, M. Nilsson, P. O. Jensen [et al.] // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2013. – Vol. 57, issue 5. – P. 2352–2361.
9. Maurice N. M. *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: host response and clinical implications in lung infections / N. M. Maurice, B. Bedi, R. T. Sadikot // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. – 2018. – Vol. 58, issue 4. – P. 428–439. – DOI : 10.1165/rcmb.2017-0321TR.
10. Способность к формированию биопленок в искусственных системах у различных штаммов *Salmonella typhimurium* / Ю. М. Романова, Н. В. Алексеева, Т. А. Смирнова [и др.] // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. – 2006. – № 4. – С. 38–42.
11. Antibiotic treatment in childhood community-acquired pneumonia – clinical practice versus guidelines: results from two university hospitals / S. C. Man, V. Sas, C. Schnell [et al.] // *Clujul Medical*. – 2018. – Vol. 91, issue 1. – P. 53–57.
12. Management of community-acquired pneumonia in infants and children: Clinical practice guidelines endorsed by the Saudi Pediatric Infectious Diseases Society / O. Alzomor, S. Alhajjar, F. Aljobair [et al.] // *International Journal of Pediatrics and Adolescent Medicine*. – 2017. – Vol. 4, issue 4. – P. 153–158.
13. Executive summary: the management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: Clinical Practice Guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America / J. S. Bradley, C. L. Byington, S. S. Shah [et al.] // *Clinical Infectious Diseases*. – 2011. – Vol. 53, issue 7. – P. e25–e76.
14. Наказ МОЗ України від 05.04.07 № 167. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». – Режим доступу : <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0167282-07#Text>.

References

1. Grousd J.A., Rich H.E., Alcorn J.F. (2019). Host-pathogen interactions in Gram-Positive bacterial pneumonia. *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 32, issue 3, pp. e00107–18. DOI: 10.1128/CMR.00107-18, PMID: 31142498, PMCID: PMC6589866.
2. Fux C.A., Costerton J.W., Stewart P.S., Stoodley P. (2005). Survival strategies of infectious biofilms. *Trends in Microbiology*, vol. 13, issue 1, pp. 34–40. DOI: 10.1016/j.tim.2004.11.010, PMID: 15639630.
3. Boisvert A.A., Cheng M.P., Sheppard D.C., Nguyen D. (2016). Microbial biofilms in pulmonary and critical care diseases. *Annals of the American Thoracic Society*, vol. 13, issue 9, pp. 1615–1623. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201603-194FR, PMID: 2734-8071, PMCID: PMC5059503.
4. Van Acker H., Van Dijck P., Coenye T. (2014). Molecular mechanisms of antimicrobial tolerance and resistance in bacterial and fungal biofilms. *Trends in Microbiology*, vol. 22, issue 6, pp. 326–333. DOI: 10.1016/j.tim.2014.02.001, PMID: 24598086.

5. De la Fuente-Nunez C., Reffuveille F., Fernandez L., Hancock R.E.W. (2013). Bacterial biofilm development as a multicellular adaptation: antibiotic resistance and new therapeutic strategies. *Current Opinion in Microbiology*, vol. 16, issue 5, pp. 580–589. DOI: 10.1016/j.mib.2013.06.013, PMID: 23880136.
6. Taff H.T., Mitchell K.F., Edward J.A., Andes D.R. (2013). Mechanisms of *Candida* biofilm drug resistance. *Future Microbiology*, vol. 8, issue 10, pp. 1325–1337, DOI: 10.2217/fmb.13.101, PMID: 24059922, PMCID: PMC3859465.
7. Colvin K.M., Gordon V.D., Murakami K., Borlee B.R., Wozniak D.J., Wong G.C.L., Parsek M.R. (2011). The pel polysaccharide can serve a structural and protective role in the biofilm matrix of *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS Pathogens*, vol. 7, issue 1, pp. e1001264, DOI: 10.1371/journal.ppat.1001264, PMID: 21298031, PMCID: PMC3029257.
8. Chiang W.C., Nilsson M., Jensen P.O., Hoiby N., Nielsen T.E., Givskov M., Tolker-Nielsen T. (2013). Extracellular DNA shields against aminoglycosides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, vol. 57, issue 5, pp. 2352–2361, DOI: 10.1128/AAC.00001-13, PMID: 24059922, PMCID: PMC3859465.
9. Maurice N.M., Bedi B., Sadikot R.T. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: host response and clinical implications in lung infections. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, vol. 58, issue 4, pp. 428–439. DOI: 10.1165/rcmb.2017-0321TR, PMID: 29372812, PMCID: PMC5894500.
10. Romanova Yu.M., Alekseieva N.V., Smirnova T.A., Andreiev A.L., Didenko L.V., Gintsburg A.L. (2006). Sposobnost k formirovaniu bioplenok v iskusstvennykh sistemakh u razlichnykh shtammov *Salmonella typhimurium* [Biofilm formation by different strains of *Salmonella typhimurium* in artificial systems]. *Zhurnal Microbiologii, Epidemiologii i Immunobiologii – Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*, issue 4, pp. 38–42 [in Russian].
11. Man S.C., Sas V., Schnell C., Florea C., Tutu A., Szilagyi A. et al. (2018). Antibiotic treatment in childhood community-acquired pneumonia – clinical practice versus guidelines: results from two university hospitals. *Chujul Medical*, vol. 91, issue 1, pp. 53–57. DOI: 10.15386/cjmed-808, PMID: 29440952, PMCID: PMC5808268.
12. Alzomor O., Alhajjar S., Aljobair F., Alenizi A., Alodyani A., Alzahrani M. et al. (2017). Management of community-acquired pneumonia in infants and children: Clinical practice guidelines endorsed by the Saudi Pediatric Infectious Diseases Society. *International Journal of Pediatrics and Adolescent Medicine*, vol. 4, issue 4, pp. 153–158. DOI: 10.1016/j.ijpam.2017.12.002, PMID: 30805522, PMCID: PMC6372484.
13. Bradley J.S., Byington C.L., Shah S.S., Alverson B., Carter E.R., Harrison C. et al. (2011). Executive summary: the management of community-acquired pneumonia in infants and children older than 3 months of age: Clinical Practice Guidelines by the Pediatric Infectious Diseases Society and the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, vol. 53, issue 7, pp. e25–e76. DOI: 10.1093/cid/cir531, PMID: 21880587, PMCID: PMC7107838.
14. Nakaz MOZ Ukrainy vid 05.04.07 № 167. Pro zatverdzhennia metodychnykh vkazivok «Vyznachennia chutlyvosti mikroorhanizmiv do antybakterialnykh preparativ» [Order of the Ministry of Health of Ukraine dated 05.04.07 № 167. On approval of methodical recommendations «Detection sensibility of microorganisms to antibacterial drugs»]. Retrieved from <https://zakon.rada.gov.ua/rada/show/v0167282-07#Text> [in Ukrainian].

А.О. Исаева, М.М. Мишина, Ю.А. Мозговая, М.А. Гончарь, О.Л. Логвинова, М.А. Басюк
ВОЗДЕЙСТВИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА БИОПЛЕНОЧНУЮ ФОРМУ
СУЩЕСТВОВАНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ С ВНЕГОСПИТАЛЬНОЙ
ПНЕВМОНИЕЙ

Изучали действие антибактериальных препаратов на биопленочные формы микроорганизмов. Были использованы штаммы *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, выделенные от детей с внегоспитальной пневмонией. Способность микроорганизмов формировать биопленки была изучена в плоскостных планшетах. Цефтриаксон, амикацин, кларитромицин и левофлоксацин были отобраны для исследования. Определение чувствительности микроорганизмов – возбудителей внебольничных пневмоний у детей проводили методом серийных разведений. Установлено, что все штаммы выделенных микроорганизмов были способны формировать первичные и вторичные биопленки. При сравнении оптической плотности (ОП)

S. aureus, *S. pneumoniae* и *P. aeruginosa* после действия антибактериальных препаратов (АБП) на сформированную первичную биопленку и ОП первичной биопленки *S. aureus*, *S. pneumoniae* и *P. aeruginosa* без воздействия АБП было выявлено, что в отобранных разведениях толщина первичной биопленки при воздействии АБП была меньше толщины первичной биопленки без действия АБП. При сравнении ОП *S. aureus*, *S. pneumoniae* после действия АБП на сформированную вторичную биопленку и ОП вторичной биопленки *S. aureus*, *S. pneumoniae* без действия АБП было выявлено, что в изучаемых разведениях толщина вторичной биопленки под действием АБП была больше толщины вторичной биопленки без воздействия АБП.

Ключевые слова: биопленки, антибактериальные препараты, внегоспитальная пневмония, дети.

H.O. Isaieva, M.M. Mishyna, Yu.A. Mozgova, M.O. Gonchar, O.L. Logvinova, M.A. Basiuk
ACTION OF ANTIBACTERIAL DRUGS TO THE BIOFILM FORM OF MICROORGANISMS, WHICH WERE ISOLATED FROM CHILDREN WITH COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA

Action of antibiotics to the microorganisms in their biofilm forms was detected. Strains of *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* were used in the research. Microorganisms were isolated from children with community-acquired pneumonia. Ability of microorganisms to form biofilms was detected in 96-well plates. For detection action of antibacterial drugs to the biofilm forms of isolated microorganisms Ceftriaxon, Amikacin, Clarithromycin and Levofloxacin were chosen. Serial dilution method was used to determine susceptibility of microorganisms to the action of antibacterial drugs. All strains, which were isolated from patients with community acquired pneumonia, were able to form biofilms. Comparing optical density (OD) of *S. aureus*, *S. pneumoniae* and *P. aeruginosa* after action of antibiotics to the primary biofilms and OD of primary biofilms without action of antibacterial drugs revealed that in specific dilutions depth of primary biofilms with antibiotic action was thinner than depth of primary biofilms without action of antibacterial drugs. Comparing OD of *S. aureus*, *S. pneumoniae* and *P. aeruginosa* after action of antibiotics to the secondary biofilms and OD of secondary biofilms without action of antibacterial drugs revealed that in certain dilutions depth of secondary biofilms with antibiotic action was thicker than depth of secondary biofilms without action of antibacterial drugs.

Keywords: biofilms, antibiotics, community acquired pneumonia, children.

Надійшла 08.10.20

Відомості про авторів

Ісаєва Ганна Олегівна – аспірант кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4, Харківський національний медичний університет.

Тел.: +38(098)005-90-12.

E-mail: anna1989isaeva@ukr.net.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6361-0904>.

Мішина Марина Митрофанівна – доктор медичних наук, завідувач кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова Харківського національного медичного університету, професор.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4, Харківський національний медичний університет.

Тел.: +38(097)324-91-15.

E-mail: mishina1969mmm@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6484-4198>.

Мозгова Юлія Анатоліївна – кандидат медичних наук, доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4, Харківський національний медичний університет.

Тел.: +38(093)948-82-07.

E-mail: yumozgova1980@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6770-9397>.

Гончарь Маргарита Олександрівна – доктор медичних наук, завідувач кафедри педіатрії № 1 та неонатології Харківського національного медичного університету, професор.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4, Харківський національний медичний університет.

Тел.: +38(097)494-23-45.

E-mail: margarytagonchar@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9167-2034>.

Логвінова Ольга Леонідівна – доктор медичних наук, доцент кафедри педіатрії № 1 та неонатології Харківського національного медичного університету.

Адреса: Україна, 61022, м. Харків, пр. Науки, 4, Харківський національний медичний університет.

Тел.: +38(097)378-33-44.

E-mail: olga.logvinova25@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2678-4822>.

Басюк Маріанна Андріївна – лікар-бактеріолог Харківської обласної дитячої клінічної лікарні.

Адреса: Україна, 61093, м. Харків, вул. Озерянська, 5, Харківська обласна дитяча клінічна лікарня.

Тел.: +38(067)803-12-98.

E-mail: basyk11maryanna@gmail.com.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7586-9534>.