

Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2012. – Вип. 20, т. 1. – С. 13–22.
Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology. Ecology. – 2012. – Vol. 20, N 1. – P. 13–22.

УДК 579.61:616-078

Є. С. Воробей, О. С. Воронкова, А. І. Вінніков

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

БАКТЕРІАЛЬНІ БІОПЛІВКИ. QUORUM SENSING – «ВІДЧУТТЯ КВОРУМУ» У БАКТЕРІЙ В БІОПЛІВКАХ

Наведено дані про біоплівки, їх структуру та властивості, особливості формування та взаємодії мікроорганізмів у плівці. Розкрито питання відкриття та вивчення біоплівок, показано значущість біоплівок у медичній і клінічній мікробіології. Наведені дані дозволяють інтерпретувати біоплівку як форму існування нормальної мікрофлори організму. Для обміну інформацією в межах біоплівки між окремими клітинами одного або різних видів бактерії використовують сигнальні молекули системи Quorum sensing. Координація різних видів активності бактеріальних клітин у складі біоплівок забезпечує їм значні переваги: у біоплівках бактерії виявляються захищеними від дії захисних факторів господаря та антибактеріальних препаратів.

Е. С. Воробей, О. С. Воронкова, А. И. Винников

Днепропетровский национальный университет им. Олесь Гончара

БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БИОПЛЕНКИ. QUORUM SENSING – «ЧУВСТВО КВОРУМА» У БАКТЕРИЙ В БИОПЛЕНКАХ

Представлены данные о биопленках, их структуре и свойствах, особенностях формирования и взаимодействия микроорганизмов в пленке. Раскрыты вопросы открытия и изучения биопленок, показано значение биопленок в медицинской и клинической микробиологии. Представленные данные позволяют интерпретировать биопленку как форму существования нормальной микрофлоры организма. Для обмена информацией в пределах биопленки между отдельными клетками одного или разных видов бактерии используют сигнальные молекулы системы Quorum sensing. Координация различных видов активности бактериальных клеток в составе биопленок обеспечивает им значительные преимущества: в биопленках бактерии оказываются защищенными от действия защитных факторов хозяина и антибактериальных препаратов.

E. S. Vorobey, O. S. Voronkova, A. I. Vinnikov

Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University

BACTERIAL BIOFILMS. BACTERIA QUORUM SENSING IN BIOFILMS

Data on biofilms, their structure and properties, peculiarities of formation and interaction between microorganisms in the film are presented. Information on discovery and study of biofilms, importance of biofilms in the medical and clinical microbiology are offered. The data allow to interpret biofilm as a form of existence of human normal microflora. For the exchange of information within the biofilm between the individual cells of the same or different species bacteria use the signal molecules of the Quorum sensing system. Coordination of bacterial cells activity in the biofilms gives them significant advantages: in the biofilms bacteria are protected from the influence of the host protective factors and the antibacterial drugs.

Вступ

Понад 150 років тому Роберт Кох розробив метод чистої культури для виділення індивідуальних штамів бактерій. Ці підходи донині широко використовуються в мікробіології, однак ріст окремих клітин планктонних (вільноплаваючих) бактерій у середовищі, багатому на поживні речовини, істотно відрізняється від їх існування у природних умовах або в організмі людини. Зазвичай планктонний фенотип бактерій зустрічається лише транзиторно й у мінімальній кількості, тоді як переважно бактеріальні популяції являють собою біоплівки – полімікробні фіксовані співтовариства мікроорганізмів, вбудовані до синтезованого ними полімерного матриксу [5].

У 1978 р. сформулювали загальну теорію існування біоплівок, згідно з якою більшість бактерій ростуть у замкнених матрицях – біоплівках, прикріплених до поверхонь будь-яких екосистем, забезпечені живленням і містять воду. Суттєво, що ці просторово пов'язані з поверхнею бактеріальні клітини значно відрізняються від своїх планктонних (вільноплаваючих) двійників [26].

Сьогодні більшістю мікробіологів визнано, що значна кількість мікроорганізмів у природних і штучно створених середовищах існує у вигляді структурованих, прикріплених до поверхні угруповань – біоплівок [20]. Біоплівка – мікробне угруповання, що характеризується клітинами, прикріпленими до поверхні або одна до одної, замкненими в матрикс синтезованих ними позаклітинних полімерних речовин. Вони демонструють зміну фенотипу, що виражається зміною параметрів зростання та експресії специфічних генів [21]. Плівка включає зазвичай 15–20 % бактеріальної маси, що міцно прикріпилася до тієї чи іншої поверхні, і 80–85 % захисного матриксу, який знижує ступінь впливу антибіотиків і антисептиків на мікрокультури-мішені в десятки, сотні і навіть тисячі разів [1].

Біоплівки – рухливі, безперервно мінливі гетерогенні угруповання [22], що можуть складатися з одного виду бактерій чи грибів або, частіше, можуть бути полімікробними (наприклад, містити численні різноманітні види мікроорганізмів). Біоплівки можна охарактеризувати як бактерії, вбудовані у товстий слизовий шар, який складається з цукрів і протеїнів. Цей плівковий бар'єр захищає мікроорганізми від зовнішнього впливу [2]. Мікроорганізми, які входять до складу біоплівки, існують у двох формах: фіксованої до поверхні та планктонної, вільноплаваючої, що є субстратом поширення інфекції з її первинного локусу [19].

Здатність бактерій формувати біоплівки – істотний чинник патогенності. Біоплівки – фізичні структури з унікальними характеристиками, утворені пов'язаними з поверхнями мікробними угрупованнями. Утворення біоплівок – одна з основних стратегій, що підвищує виживання бактерій у навколишньому середовищі, у тому числі в організмі господаря. Здатність мікроорганізмів існувати у складі біоплівок створює великі труднощі, тому що при цьому значно підвищується стійкість бактерій до антибактеріальних і дезинфікуючих засобів, впливу несприятливих факторів середовища (таких як низькі або високі значення pH , висока осмотична сила та інші фактори, а також дії імунного захисту організму-господаря). Утворення бактеріальних біоплівок на імплантованому обладнанні (наприклад, катетерах, штучних клапанах серця, лінзах тощо) спричинює розвиток низки важких хронічних захворювань, які надзвичайно складно лікуються [17]. Мікробні біоплівки відповідальні за етіологію та патогенез багатьох гострих і, особливо, хронічних бактеріальних інфекцій у людини. У природних екосистемах біоплівка – незмінно багатовидове мікробне угруповання, де кожний мікроорганізм перебуває у власній мікроніші в єдиному матриксі біоплівки [3].

Вивчення екологічних закономірностей виникнення та розвитку мікробних угруповань (біоплівки) у перспективі є ключовим моментом подальшого розвитку медичної мікробіології [3]. Мета цієї статті – узагальнити відомості про структуру бактеріальних біоплівок, їх формування та функціонування.

Процес формування біоплівки

Утворення біоплівок – складний комплексний динамічний процес, що складається з декількох етапів: адгезії клітин на поверхні та перерозподілу клітинної маси; активного поділу клітин для створення клітинних кластерів; утворення екзополімерного слизового матриксу [7]. Формування біоплівок слід розглядати як спосіб адаптації бактерій до особливих зовнішніх впливів, таких як розпізнання мікробами відповідних ділянок приєднання до субстрату, оцінка складу живильного середовища та зміна його кислотності, наявність антибіотиків тощо. Коли бактерії переходять у режим росту у складі біоплівки, відбуваються значні зміни експресії десятків бактеріальних генів відповідно до стадії розвитку колонії [8]. У результаті досліджень встановлено, що:

- ключовим моментом, без якого неможливе утворення мікробної біоплівки, виступає процес адгезії мікроорганізму до доступної для подальшої колонізації поверхні;
- біоплівки формуються в декілька етапів;
- біоплівки вимагають міжклітинної передачі сигналів;
- транскрибують гени, відмінні від планктонних клітин [3].

Найчастіше мікроорганізми існують у вигляді мас, що вільно плавають, або одиничних колоній. Проте в нормальних умовах більшість мікроорганізмів прагне прикріпитися до поверхні й, у кінцевому рахунку, утворити біоплівку.

У міру розмноження бактерій вони більш міцно прилипають до поверхні, диференціюються, обмінюються генами, що забезпечує їх виживання [2]. Адгезія мікроорганізмів залежить від досить великої кількості змінних, таких як вид мікроорганізму, фізичні та хімічні властивості поверхні, низки екологічних факторів, продуктів експресії певних генів тощо [3]. Після незворотної адгезії популяція мікроорганізму починає інтенсивно проліферувати з утворенням багатоклітинних шарів і рясно синтезувати компоненти екзополімерного матриксу. Це один із ключових моментів утворення біоплівок [28]. Після прикріплення до твердої поверхні клітини розмножуються, утворюючи моношар. Далі окремі клітини (за наявності пілей IV типу) проявляють поверхневу рухливість, у результаті якої мікробні клітини формують так звані мікроколонії. Мікроколонії потім диференціюються, утворюючи зрілу біоплівку. Клітини у цих структурах упаковуються в позаклітинні полісахаридні матриці [11].

Перші бактерії біоплівки, що закріпилися на ділянці субстрату, полегшують закріплення інших як шляхом експресії спеціальних білків адгезії, так і через побудову згаданої вище «матриці» позаклітинних полімерних речовин, що зміцнюють біоплівку. Під час закріплення на субстраті бактерії випускають сигнальні молекули, приваблюючи нові бактерії до зростаючої біоплівки, що стимулює подальший розподіл вже закріплених у ній бактерій. Інакше кажучи, після закріплення початкової колонії плівка зростає внаслідок поділу її складових та їх «рекрутування» з навколишнього середовища [8].

Потенціал зростання будь-якої бактеріальної біоплівки обмежений кількістю живильних речовин у навколишньому середовищі, їх доступністю для клітин, що містяться всередині біоплівки, і можливістю видалення продуктів метаболізму. Крім того, існує гідродинамічний оптимум швидкості потоку навколишнього середовища,

який в ідеальному випадку прискорює зростання біоплівки за рахунок оптимізації швидкості надходження живильних речовин і видалення екзометаболітів, а в разі більшої швидкості – викликає ерозію зовнішніх шарів біоплівки.

Після остаточного дозрівання у біоплівці встановлюється оптимальна швидкість росту та загибелі клітин, фізіологічна кооперативність і метаболічна ефективність, які забезпечують оптимальні умови для функціональної координації, у результаті чого створюється тривимірна структура, багато в чому подібна до такої еукаріотичних тканин. Не випадково у спеціальній літературі дослідники образно вживають терміни «п'ята тканина» або «невидимий орган» відносно всього мікробного співтовариства, що населяє людину [3].

Будова біоплівок

Застосування конфокальної сканувальної лазерної мікроскопії для дослідження біоплівок радикально змінило сприйняття їх структурних і функціональних особливостей. Цей метод дав можливість досліджувати біоплівки *in situ* без обмежень, з якими стикається електронна мікроскопія, хоча і за нижчого збільшення. За допомогою конфокальної сканувальної лазерної мікроскопії показано, що біоплівки – неструктурно гомогенні моношари мікробних клітин на поверхні. Скоріше вони можуть бути описані як гетерогенні у часі та просторі структури, однак основна структура спільноти універсальна, з деякими незначними варіаціями [21].

Одного разу стійко приєднавшись, бактерії починають утворювати екзополісахаридний навколишній матрикс, відомий як позаклітинна полімерна речовина (extracellular polymeric substance). Це запобіжний матрикс або «слиз» (EPS-matrix) [2]. Цей матрикс складається із суміші полісахаридів, що виділяються до навколишнього середовища (екзополісахариди), білків, нуклеїнових кислот, інших речовин. Бактеріальні екзополісахариди – головний компонент матриксу біоплівки, який деякі автори називають також глікокаліксом або слизовим чохлам. Основний його компонент – зв'язана вода [3]. Подібно міжклітинному матриксу тканин тварин, мікробний матрикс також включає фібрилярні елементи. Схожість між тваринним і мікробним матриксом доповнюється спільністю деяких хімічних компонентів (прикладом служать сіалові кислоти) [12]. Всі біоплівки високогідратовані, деякі до 73 % складаються з позаклітинного матеріалу, включаючи водні канали та екзополісахариди. У більшості видів екзополісахаридний матрикс складається з альгінату, будучи переважно аніонним. Матрикс – тривимірна структура, яка оточує, закріплює та захищає прикріплені до різних поверхонь мікроколонії бактерій [3].

Матрикс розділений каналами, наповненими водою, а також має порожнини. Через канали транспортуються живильні речовини та проходять конвективні потоки кисню від зовнішніх до внутрішніх частин біоплівки, одночасно з цим виводяться метаболіти бактеріальних клітин [25]. Пори та канали, що пронизують усю біоплівку – дуже важлива частина її структури. Образно їх можна порівняти з кровоносною системою біоплівки [3].

Роль матриксу у біоплівках

Мікроорганізми синтезують і виділяють запобіжний матрикс, за допомогою якого біоплівки приєднуються до живої та неживої поверхні [27]. Матрикс відіграє величезну роль: забезпечує щільне прикріплення колонії до поверхні; служить середовищем для передачі сигнальних молекул; робить можливим вертикальне тривимірне зростання колонії, виконуючи роль своєрідного каркаса; утворює канали, по яких

відбуваються постійний транспорт живильних речовин і виведення продуктів життєдіяльності мікроорганізмів із колонії, виконує захисну функцію [4].

Як «функціональний орган» мікробної колонії матрикс мікроорганізмів виконує такі функції (належать до надклітинного рівня організації).

1. *Структуротвірна функція.* Завдяки матриксу колонія складається, строго кажучи, не з одиночних клітин, а з субколоніальних асоціацій, які зустрічаються й у грампозитивних, й у грамнегативних бактерій (у тому числі патогенних видів обох цих груп, і особливо привертають увагу при електронномікроскопічному спостереженні капсульованих бактерій, наприклад, клебсієл). До структури колоній відносять також порожні трубочки з позаклітинних полісахаридів та інших біополімерів – мікроканали для транспорту речовин (наприклад, у колоніях *Pseudomonas aeruginosa*). Крім цього, через подібні трубочки мігрують клітини колоній, зазвичай у вигляді дрібних L-форм [12].

2. *Захисна (протекторна) функція.* Обволікаючий клітини матрикс виступає як буферне внутрішнє середовище колонії, що оберігає окремі клітини та всю колонію від несприятливих впливів іззовні (висихання, нагрівання чи охолодження, атака гідролітичних ферментів тощо). Полісахаридні та пептидні компоненти матриксу, зокрема, включають ряд кріо-, термо- та ксеропротекторів [12]. Біоплівки істотно підвищують толерантність мікроорганізмів, розміщених у її матриксі, до імунної системи господаря, антимікробних агентів і стресів (наприклад, обмеження кисню чи живлення). Толерантність може сприяти повній резистентності до факторів, які могли б легко знищити цих самих мікробів у разі їх зростання у незахищеному, планктонному стані [2].

3. *Комунікативна функція.* До матриксу виділяються та з нього поширюються екзометаболіти та продукти автолізу клітин, включаючи хімічні сигнальні речовини, у тому числі ті, які слугують для оцінки щільності власної популяції. У ряді випадків сигнальні речовини присутні у супернатанті мікробної культури лише в незначних концентраціях, оскільки затримуються в матриксі – місці виконання своїх функцій. Необхідно підкреслити, що багато видів бактерій зберігають надклітинну організацію та, відповідно, позаклітинний матрикс й у разі культивування на рідких середовищах [12].

Способи захисту бактерій за допомогою біоплівок

Блокування – простий шлях, у результаті якого позаклітинний полісахаридний матрикс захищає мікробів, – запобігання глибокому проникненню до матриксу біоплівки великих молекул (наприклад, антитіл) і клітин, що викликають запалення. Зріла біоплівка може також служити дифузним бар'єром для таких дрібних молекул як антимікробні агенти [23].

Взаємний захист – інша унікальна властивість полімікробних біоплівок – сукупні захисні властивості, яких бактерії різних видів набувають унаслідок обміну генами або внаслідок виділення до середовища відповідних факторів. Так, антибіотикорезистентні бактерії здатні виділяти захисні ензими або антибіотикозв'язувальні протеїни, які можуть захищати сусідні антибіотикочутливі бактерії у біоплівці [22]. Також вони можуть передавати іншим бактеріям гени, відповідальні за антибіотикорезистентність (навіть іншим видам бактерій) [30]. Специфічні характеристики EPS біоплівок, властиві одному виду бактерій, можуть відігравати суттєву роль у здатності інших видів приєднуватися та вбудовуватися до існуючих біоплівок [24].

Бездіяльність (нерухомі бактерії) – утворення метаболічно нерухомих (неактивних) субпопуляцій. Для того, щоб антибіотик подіяв на бактерії, останні повинні бути метаболічно активними, тому неактивні бактерії у біоплівках практично не піддаються дії антибіотиків, які знищують зазвичай активні бактерії [22].

Кворум-системи мікроорганізмів

Незважаючи на те, що проблема утворення біоплівки сапрофітними та умовно-патогенними мікроорганізмами в умовах *in vivo* до кінця не з'ясована, незаперечно доведено зв'язок цього феномену з проявом соціальної поведінки бактерій, що отримав назву «відчуття кворуму» [2]. Поняття «відчуття кворуму» (Quorum sensing) запропоноване в 1994 році. Воно означає сприйняття клітинами змін середовища, які настають при досягненні бактеріальною культурою деякої граничної чисельності, та реакцією на ці зміни [9].

Quorum Sensing (QS) – особливий тип регуляції експресії генів бактерій, що залежить від щільності їх популяції [17]. QS-системи містять два обов'язкові компоненти: низькомолекулярний регулятор (аутоіндуктор), який легко дифундує через клітинну мембрану, та рецепторний регуляторний білок, з яким аутоіндуктор (AI) зв'язується [16]. У міру того як популяція бактерій зростає і досягає критичного рівня, AI накопичуються до необхідного порогового значення та взаємодіють із відповідними регуляторними білками, що викликає різку активацію (індукцію) експресії певних генів бактерій. За допомогою AI здійснюється комунікація бактерій – передача інформації між окремими клітинами бактерій, що належать до одного і того ж або до різних видів, родів і навіть родин; тому сигнальні молекули вважають «словами» у цій своєрідній «мові» бактерій [17].

Для підтримання кворумної сигналізації бактерії постійно виробляють специфічні сигнальні молекули, які виділяють у зовнішнє середовище. Олігопептиди є такими сигнальними молекулами у грампозитивних бактерій, N-ацилгомосерин лактони – у грамнегативних бактерій [8].

Численні дослідження останніх років показали, що мікроорганізми, включаючи пробіотичні бактерії, синтезують і розпізнають широкий спектр аутоіндукторів різної хімічної природи. Відомі також потенційні аутоіндуктори пробіотичних бактерій: лактони; пептидні феромони; індуктори AI типу, включаючи фуранони; летючі жирні та інші органічні кислоти; певні групи ферментів (лактонази, глікозидази, оксидази); стресові білки; білки та пептиди, що імітують сигнальні молекули еукаріотичних клітин; деякі амінокислоти (глутамат, бета-аланін); вітаміни (біотин); аміни (гістамін, серотонін) і поліаміни (спермін, спермідин); деякі ліпополісахариди (пептидоглікан, ліпoteйхоева кислота); антимікробні агенти (бактеріоцини, мікроцини, оксид нітрогену, активні форми кисню); лектини; біосурфактанти [10].

Механізм роботи QS заснований на складному ієрархічному регулюванні цільових локусів геному бактеріальної клітини. При цьому регулювання здійснюється на різних рівнях впливу: транскрипційному, трансляційному, посттрансляційному. На конкретний клітинний сигнал клітини в популяції відповідають специфічним відгуком. Зараз відомо, що клітинно-клітинні взаємозв'язки впливають на внутрішньо-популяційне диференціювання, експресію генів вірулентності, регулюють ростові процеси, характер і напрямок рухливості (таксис), а також бактеріальний апоптоз і токсиноутворення [29]. Принцип дії механізму полягає в активації транскрипції специфічних генів при досягненні порогового рівня зв'язування білка-активатора транскрипції (LuxR) із низькомолекулярним аутоіндуктором. Описаний механізм опосередковує давно відомий феномен більшої швидкості росту культур мікроорганізмів при великих значеннях посівної дози [14].

QS регулює важливий процес перемикання фенотипу бактеріальної клітини з планктонної форми на сесильну. Це необхідний етап утворення біоплівки для біологіч-

но вигідного паразитування макроорганізму. На початку інфекційного процесу першою метою патогену – проникнення та адгезія у тканинах макроорганізму. При цьому, як зазначалося вище, ресурси клітини спрямовані на біосинтез джгутиків і специфічних білків – адгезинів. Однак компоненти фімбацій і джгутиків, білки адгезинів є сильними імуногенами, вони стимулюють також утворення інтерлейкінів. Відповідно для подальшого виживання популяції всередині інфекційного вогнища утворення джгутиків і систем адгезії буде біологічно не вигідним. Тому на етапі дозрівання біоплівки QS інгібує утворення джгутиків і адгезинів. Аналогічним чином відбувається зворотний процес – утворення рухомих форм клітин у біоплівці або вивільнення цілого кластера клітин (detachment cell) для колонізації навколишнього субстрату [7].

Уперше QS регуляцію виявили на початку 1970-х років у морської бактерії *Vibrio fischeri*. Здатність цієї бактерії до біоломінесценції зумовлюється синтезом люциферази, кодованої lux опероном (lux CDABE). Біоломінесценція спостерігається тільки за високої щільності популяції бактерій (до 10^{11} клітин/мл) [17].

Вочевидь, при досягненні в мікробному угрупованні критичної чисельності опортуністичних мікроорганізмів QS-система стимулює посилення адгезивних властивостей потенційного збудника та ініціює синтез факторів патогенності, що надалі визначає розвиток інфекційного процесу [2].

Реакції кворум-сенсингу у грампозитивних мікроорганізмів

Грампозитивні бактерії зазвичай здійснюють комунікації, використовуючи олігопептидні сигнальні молекули. Передача сигналів у більшості випадків включає двокомпонентний механізм фосфорилування. Як правило, стан кворуму досягається при переході популяції клітин у стаціонарну фазу росту. Саме в цей час виявляються сигнальні молекули, які опосередковують міжклітинні контакти. Загальну схему комунікацій грампозитивних бактерій можна уявити таким чином: спочатку у клітині синтезується попередник, який, модифікуючись, перетворюється на зрілий олігопептид. Останній екскретується назовні експортером. Молекули олігопептиду накопичуються в міжклітинному просторі у міру того, як росте щільність бактеріальних клітин. Двокомпонентна сенсорна кіназа, що пронизує мембрану, розпізнає сигнал і здійснює його передачу до клітини у процесі каскадного фосфорилування. У клітині олігопептид взаємодіє з цільовим геном (генами) [9].

Реакції кворум-сенсингу у грамнегативних мікроорганізмів

У понад 450 видів грамнегативних бактерій виявлено кворум-залежні системи, в яких сигнальними молекулами служать різні ацилгомосеринлактони. Загальну схему комунікацій грамнегативних бактерій можна подати таким чином: у системі кворум-сенсингу грамнегативних бактерій білки родини Lux I виступають аутоіндукторними синтазами та каталізують формування специфічних ацилгомосеринлактонних аутоіндукторних молекул. Аутоіндуктори вільно дифундують через мембрану та акумулюються у міру збільшення щільності клітин. Білки родини Lux R пов'язують споріднені їм аутоіндуктори при досягненні досить високої концентрації сигнальних молекул. Комплекс Lux R-аутоіндуктор зв'язується із промотором цільових генів, запускаючи їх транскрипцію [9].

Висновки

Існування бактерій всередині біоплівок забезпечує їм багато переваг порівняно з ізольованими клітинами. Для практичної медицини особливо важливо, що бактерії у

біоплівках мають підвищене виживання за присутності агресивних речовин, факторів імунного захисту та антибіотиків [19]. Біоплівки продукують екзополімер, який фізично захищає бактеріальні клітини від бактеріофагів, антитіл, фагоцитів, затримує та уповільнює проникнення антибіотиків. Причому додавання до біоплівок аміноглікозидів (у випадку *P. aeruginosa*), амоксициліну та кліндаміцину (для *Lactobacillus acidophilus*), ципрофлоксацину або метронідазолу (для *E. coli*), еритроміцину або метронідазолу (для *Gardnerella vaginalis*) у максимальних концентраціях, що можуть бути створені, зумовлює те, що спочатку більшість бактеріальних клітин гине, однак надалі, щоб викликати загибель тих клітин, які вижили, концентрацію відповідного антибіотика необхідно підвищити в 100–1 000 разів, що у клінічних умовах неможливо. Тому немає нічого дивного в тому, що антибіотикотерапія часом безсила перед цими інфекціями [18].

У даний час триває інтенсивне вивчення причин такої стійкості до антибіотиків у бактерій біоплівок. В основі підвищеного виживання лежать властивості клітин і позаклітинного матриксу. Стійкість, зумовлену властивостями клітин біоплівок, пов'язують зі зменшенням їх вільної поверхні за рахунок контактів одна з одною та формуванням бактерій, які отримали назву «персистери». Персистери перебувають у стані повної стійкості практично до всіх препаратів [19]. Персистери – альтруїстичні клітини, що виникають на стаціонарній фазі росту. Вони метаболічно неактивні та забезпечують виживання материнської популяції за присутності летальних для всіх клітин факторів [7]. Дію всіх механізмів стійкості бактерій, по суті, можна звести до одного явища – запобігання взаємодії антибіотика з його мішенню (за рахунок змін самих мішеней або за допомогою синтезу ферментів, що нейтралізують антибіотики). Толерантність опосередкована здатністю мікробної клітини виживати за присутності антибіотика за рахунок уповільнення метаболізму та «вимкнення» основних біологічних процесів клітини. Антибіотики ефективно проявляють свою дію відносно клітин, які інтенсивно поділяються, з високим рівнем синтетичних процесів. А коли клітина перебуває у стадії фізіологічного спокою («клітинного анабіозу»), антибактеріальний засіб не здатний виявити повною мірою свою біохімічну функцію [7].

Персистери не ростуть та не поділяються, що зумовлює перебування хромосоми та білкових систем реплікації, репарації та транскрипції в інтактному стані. Білки персистерів вимикають роботу всіх мішеней антибіотиків, чим опосередковують мульти толерантність (MDT, multi-drug tolerance). Отже, бактерицидні антибіотики відносно персистерів здійснюватимуть тільки бактеріостатичний ефект [7].

На даний момент з утворенням біоплівки пов'язують особливості перебігу інфекційного процесу при пневмонії, ангіогенному сепсисі, уроінфекціях, інфекційному ендокардиті, муковісцидозі, хронічному бактеріальному простатиті, періодонтиті, гострому середньому отиті. Серед збудників, що утворюють біоплівки, найбільше клінічне значення мають *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, коагулазонегативні стафілококи (CNS), *Enterococcus spp.*, *Candida spp.* [13].

Розробка препаратів, що пригнічують сигнали «почуття кворуму», має відношення до біоплівок, які утворюються в організмі людини під час інфекційного процесу. Це абсолютно нормальний процес не тільки для більшості індигенних штампів, а і для багатьох патогенних бактерій (клебсіел, стафілококів, пневмококів, стрептококів). Так вони рятуються від дії антибіотиків (які, до речі, самі можуть стимулювати утворення біоплівок), а визначення часу переходу до стану біоплівки здійснюється за «почуттям кворуму» – реакцією на концентрацію специфічних регуляторних пептидів [15].

Необхідно відзначити, що терапевтична ефективність багатьох антибіотиків істотно знижується в тих випадках, коли потрібна висока проникна здатність антибіотика, наприклад, при лікуванні інфекцій центральної нервової системи, остеомієліту, ендокардиту, при різних інфекціях, що супроводжуються утворенням біоплівки. Утворення біоплівки – одна з основних умов виживання бактерій у навколишньому середовищі. За даними Національного інституту здоров'я США, понад 60 % усіх мікробних інфекцій людини викликані біоплівками [18].

Останніми роками з'являються висловлювання про кінець ери антибіотиків. Сумніву підлягає не стільки сам принцип можливості лікування інфекційних хвороб шляхом впливу на збудника, скільки можливість подолання бактеріальної резистентності. Як основний аргумент зазвичай посилаються на можливість і навіть неминучість розвитку резистентності у мікроорганізмів до будь-яких антибактеріальних препаратів [14]. Форма існування мікроорганізмів у вигляді біоплівки – еволюційно вигідний спосіб надклітинної організації патогенних, умовно-патогенних прокаріотів при паразитуванні в макроорганізмі. На сьогодні біоплівкоутворення шпитальними штамами бактеріями – серйозна загроза для практичної охорони здоров'я. Особливого значення це набуває у відділеннях інтенсивної терапії, хірургічних стаціонарах, оскільки утворення біоплівки – причина виникнення важких катетер- і вентиляторасоційованих внутрішньолікарняних інфекцій, сепсисів, пневмоній і летальних випадків. Великі економічні втрати пов'язані з неефективною антибіотикотерапією інфекцій, що супроводжуються утворенням біоплівки [7].

Відкриття феномену соціального поведіння бактерій, що одержав назву «відчуття кворуму» (Quorum sensing), і розшифрування в 2000–2003 рр. структури хімічних агентів міжклітинної комунікації стимулювали пошук і розробку принципово нових антибактеріальних препаратів [6]. У зв'язку з цим розробляються нові підходи до ідентифікації та вивчення біоплівки. Це, перш за все, генотипування, засноване на детекції специфічних генів. Ведеться розробка нових антибіотиків, зміна тактики антибіотикотерапії, а також пошук інгібіторів кворуму бактерій у біоплівці [7].

Бібліографічні посилання

1. **Андреев И. Л.** Человек и бактериальный мир: проблемы взаимодействия // Вестник Российской академии наук. – 2009. – Т. 79, № 1. – С. 41–49.
2. **Афиногенова А. Г.** Микробные биопленки РАН: состояние вопроса / А. Г. Афиногенова, Е. Н. Даровская // Травматология и ортопедия России. – 2011. – № 3. – С. 119–125.
3. **Белобородова Н. В.** Микробные биопленки / Н. В. Белобородова, И. Т. Байрамов // Гнойно-септические заболевания у детей. Матер. V Московской конф. с участием регионов России и стран СНГ. – М.: НЦ ССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, 2009. – С. 7–38.
4. **Белобородова Н. В.** Влияние комбинации кларитромицина с имипенемом на формирование микробной биопленки *Pseudomonas aeruginosa* / Н. В. Белобородова, И. Т. Байрамов, Д. О. Миленин // Инфекции в хирургии. – 2010. – Т. 8, № 2. – С. 71–74.
5. **Вознесенский Н. А.** Биопленки – терапевтическая мишень при хронических инфекциях // Пульмонология и аллергология. – 2008. – № 3. – С. 56–64.
6. **Гинцбург А. Л.** «Quorum sensing» или социальное поведение бактерий / А. Л. Гинцбург, Т. С. Ильина, Ю. М. Романова // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2003. – № 5. – С. 86–93.
7. **Гостев В. В.** Бактериальные биопленки и инфекции / В. В. Гостев, С. В. Сидоренко // Журнал инфектологии. – 2010. – Т. 2, № 3. – С. 4–15.
8. **Громова О. А.** Молекулярные механизмы разрушения бактериальных пленок при топическом применении аскорбиновой кислоты / О. А. Громова, И. Ю. Торшин, Е. А. Гарасько // Ги-некология. – 2010. – Т. 12, № 6. – С. 12–17.

9. **Грузина В. Д.** Коммуникативные сигналы бактерий // Антибиотики и химиотерапия. – 2003. – № 48. – С. 32–39.
10. **Інформаційні** комунікації мікроорганізмів / Г. М. Кременчуцький, Д. О. Степанський, Л. Г. Юргель та ін. // Вісн. Дніпропетр. ун-ту. – 2010. – Вип. 10, т. 1. – С. 66–70.
11. **Морозова Н. С.** Дезинфектологические аспекты проблемы борьбы с биопленкой / Н. С. Морозова, В. Ф. Мариевский // Профілактична медицина (епідеміологія, мікробіологія, вірусологія, паразитологія, інфекційні хвороби). – 2009. – № 2. – С. 3–7.
12. **Олескин А. В.** Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов / А. В. Олескин, И. В. Ботвинко, Е. А. Цавкелова // Микробиология. – 2000. – Т. 69, № 3. – С. 309–327.
13. **Пронина Е. А.** Формирование бактериальных биопленок под воздействием электромагнитного излучения / Е. А. Пронина, И. Г. Швиденко, Г. М. Шуб // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 10. – С. 40–45.
14. **Структурно-функциональная** характеристика бактериальных биопленок / Т. А. Смирнова, Л. В. Диденко, Р. Р. Азизбеян и др. // Микробиология. – 2010. – Т. 79, № 4. – С. 435–446.
15. **Суворов А. В.** Гонки с микробами: наши шансы // Природа. – 2011. – № 5. – С. 13–24.
16. **Тодосійчук Т. С.** Підвищення стійкості мікробних патогенів як фактор розробки нових антисептиків / Т. С. Тодосійчук, Т. І. Стрелець, С. В. Конопацька // Наукові вісті Нац. техн. ун-ту України «Київський політехнічний інститут». – 2011. – № 3. – С. 90–97.
17. **Хмель И. А.** Quorum Sensing регуляция экспрессии генов – перспективная мишень для создания лекарств против патогенности бактерий / И. А. Хмель, А. З. Метлицкая // Молекулярная биология. – 2006. – Т. 40. – С. 195–210.
18. **Циганенко А. Я.** Достижения та перспективи розвитку антибіотикотерапії гнійно-септичних інфекцій // Експериментальна та клінічна медицина. – 2004. – № 2. – С. 8–11.
19. **Шуб Г. М.** Материалы к элективному курсу «Микробные сообщества» / Г. М. Шуб, И. Г. Швиденко, Е. А. Пронина // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – Т. 6, № 2. – С. 245–247.
20. **Ahmer B. M.** Cell-to-cell signalling in *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* // Mol. Microbiol. – 2004. – Vol. 52, N 4. – P. 933–945.
21. **Donlan R. M.** Biofilms: Survival mechanisms of clinically relevant microorganisms / R. M. Donlan, J. W. Costerton // Clinical Microbiology. – 2002. – Vol. 15, N 2. – P. 167–193.
22. **Hall-Stoodley L.** Evolving concepts in biofilm infections / L. Hall-Stoodley, P. Stoodley // Cell Microbiol. – 2009. – Vol. 11, N 7. – P. 1034–1043.
23. **Heterogeneity** of diffusion inside microbial biofilms determined by fluorescence correlation spectroscopy under two-photon excitation / E. Guiot, P. Georges, A. Brun et al. // Photochem. Photobiol. – 2002. – Vol. 75, N 6. – P. 570–579.
24. **Liu Y.** Role of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm in the initial adhesion, growth and detachment of *Escherichia coli* in porous media / Y. Liu, J. Li // Environ. Scien. Technol. – 2008. – Vol. 42, N 2. – P. 443–449.
25. **Moons P.** Bacterial interactions in biofilms / P. Moons, C. Michiels, A. Aertsen // Crit. Rev. Microbiol. – 2009. – Vol. 35, N 3. – P. 157–168.
26. **O'Toole G.** Biofilm formation as microbial development / G. O'Toole, H. B. Kaplan, R. Kotler // Annu. Rev. Microbiol. – 2000. – Vol. 54. – P. 49–79.
27. **The multiple** signaling systems regulating virulence in *Pseudomonas aeruginosa* / P. Nadal Jimenez, G. Koch, J. A. Thompson et al. // Microbiol. Mol. Biol. Rev. – 2012. – Vol. 76, N 1. – P. 46–65.
28. **Transcriptome** analyses and biofilm-forming characteristics of a clonal *Pseudomonas aeruginosa* from the cystic fibrosis lung / J. Manos, J. Arthur, B. Rose et al. // J. of Med. Microb. – 2008. – Vol. 57. – P. 1454–1465.
29. **Williams P.** Quorum sensing, communication and crosskingdom signalling in the bacterial world // Microbiology. – 2007. – Vol. 153. – P. 3923–3938.
30. **Wolcott R. D.** Regular debridement is the main tool for maintaining a healthy wound bed in most chronic wounds / R. D. Wolcott, J. P. Kennedy, S. E. Dowd // J. Wound Care. – 2009. – Vol. 18, N 2. – P. 54–56.

Надійшла до редколегії 09.03.2012