

*А.І. РОЗКЛАДКА, Н.М. МОГИЛІВСЬКА***ВПЛИВ БАКТЕРІАЛЬНИХ БІОПЛІВОК НА ПЕРЕБІГ
ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ СЕРЕДНЬОГО ВУХА
ТА АНТИБАКТЕРІАЛЬНУ ТЕРАПІЮ***Держ. установа «Ін-т отоларингології ім. проф. О.С. Коломійченка
АМН України» (дир. – чл.-кор. АМНУ, проф. Д.І. Заболотний)*

Роботи 90-х років минулого сторіччя різко посилили інтерес до такого важливого у різних областях медицини питання, як утворення бактеріальних біоплівки. Більшість дослідників вважають, що 99,9% бактерій ростуть у природних водних екосистемах з достатньою кількістю поживних речовин не у вигляді вільно плаваючих клітин (планктону), а у вигляді біоплівки, що прикріплюються до будь-яких твердих поверхонь абіотичної природи (А.Я. Цыганенко и соавт., 2004; P'ina et al., 2004). Вперше біоплівки були описані Antonie van Leeuwenhoek, але теорія їх утворення з'явилася у 1978 р. (Donlan et al., 2002). З того часу іде активний процес вивчення цього явища та його значення для медицини в цілому. В теперішній час відбувається поступовий перехід від уяви про мікроорганізми як одноклітинні організми до уяви про них як про цілісні «надорганізми». Це видно з того, що зростає інтерес до макро- та мікроструктури бактеріальних біоплівки, мікроколоній, ланцюгів. В сучасній мікробіології намічається поступовий перехід до біосоціального підходу до мікроорганізмів, чому сприяє детальний аналіз міжклітинних (міжпопуляційних) взаємодій за допомогою генної інженерії, скануючої електронної мікроскопії та ін. (Pink et al., 2004; Hunter et al., 2005; Nunez et al., 2005).

Мікроорганізмам, що входять до складу колонії, притаманна гетерогенність, навіть якщо колонія розвинулась з однієї

клітини. Колонія складається з декількох різних клітинних кластерів: ті, що активно діляться, в стані спокою та ті, що спонтанно автолізується. Клітини, які знаходяться в стані спокою, не культивуються. Цим пояснюється велика кількість посівів, в яких не виявлено росту мікроорганізмів. Також для колоній мікроорганізмів характерно формування функціональних органів надорганізованого рівня, які належать до цілої системи та колективно використовуються всіма її елементами (індивідами). Найбільш примітний факт злиття особистих зовнішніх клітинних покривів (капсул, екстракапсулярного слизу та ін.), що призводить до утворення єдиного біополімерного матриксу (В.Г. Войцеховський, 2004). Як «функціональний орган» мікробної колонії, матрикс виконує структуроутворюючу, захисну та комунікаційну ролі, тобто ролі, які відносяться до надклітинного рівня організації.

Пряме електронно-мікроскопічне дослідження живої біоплівки, яка складається з бактерій одного виду або декількох видів, показало, що в основному структура біоплівки універсальна та, незалежно від складу, суттєво не відрізняється. Повноцінна біоплівка складається з живих клітин (15%), оточених матриксом (85% об'єму) різних утворень, що за формою нагадують «вежі» або «гриби». Серед мікроколоній, складених з прикріплених клітин, в глибині матриксу проходять водні канали, ця вода утворює конвекційний потік. Через такі ка-

нали здійснюється постачання поживними речовинами та видалення продуктів життєдіяльності бактерій.

Як було згадано, характерною для мікроорганізмів, об'єднаних в біоплівку, є продукція позаклітинної суміші цукрових полімерів, які отримали назву екзополісахариду та утворюють матрикс. Він фізично захищає клітини від факторів імунної системи, від бактеріофагів, ускладнює та уповільнює проникнення антибіотиків (Stewart, 1996; Mukherjee et al., 2004). При проникненні антибіотиків типу аміноглікозидів (для *P. aeruginosa*), ципрофлоксацину чи іміпенему (для *E. coli*), амоксициліну та кліндаміцину (для *L. acidophilus*) в клінічно досяжних концентраціях спочатку більшість клітин в біоплівках гине, але після зменшення кількості живих клітин з 10^3 - 10^4 до 10^2 - 10^3 порядків ті, що залишилися, стають надзвичайно стійкими до підвищення концентрації антибіотиків. Важливу роль у формуванні стійкості відіграє також уповільнена швидкість росту бактерій в біоплівках (А.Я. Цыганенко и соавт., 2004; Vuong et al., 2005). Крім того, біоплівки здатні елімінувати пошкоджені клітини, які могли б використовувати обмежені поживні та енергетичні ресурси, тим самим створюючи більше можливостей для виживання клітин, що залишилися та придбали резистентність до антибактеріальних препаратів. Таким чином, бактерії існують у вигляді цілісних структурованих колоній, біоплівок та ін., які характеризуються функціональною спеціалізацією клітин, нагадують «суперорганізм», подібний до сімей таких соціальних комах, як мурахи, бджоли. Феномен такої соціальної поведінки отримав назву «відчуття кворуму», або Quorum sensing (QS).

Багато мікробних процесів, таких як синтез детермінант вірулентності, біолюмінесценція, перенос кон'югативних плазмід, синтез антибіотиків, утворення біоплівок і навіть процес реплікації, реалізуються тільки при наявності достатньої щільності популяції (кворума). Коли патоген, наприклад, *P. aeruginosa* попадає до організму людини, він при низькій щільності не продукує фактори вірулентності (екзотоксини, екзоферменти, слиз, формування біоплівки та ін.) і не атакує еукаріотичні клітини хазяїна, поки

немає цілковитої впевненості в успіху, щоб не проявити себе раніше часу, бо імунна система реагує, в першу чергу, на ці фактори та при низькій щільності мікроорганізмів легко може з ними впоратися. Розмножуючись і досягнувши порогових значень, бактерії «оцінюють» свої можливості та включають гени, що відповідають за синтез факторів вірулентності. Встановлено, що існують, в усякому разі, три способи оцінки та передавання інформації між бактеріями: безпосередній контакт, утворення дифундуючих в середовищі хімічних агентів, генерація тих чи інших фізичних полів.

Утворення мікроорганізмами біоплівок вважається на теперішній час первинною стратегією виживання не тільки в зовнішньому середовищі, а також і в організмі людини (Piña et al., 2004; Lasa et al., 2005). В стані бактеріальної біоплівки бактерії є недіючими. Вони намагаються вижити, а коли отримують сигнал про екологічну безпеку, відриваються від біоплівки, розсіюються та прикріплюються в інших місцях, вертаючись до планктонічної форми. В цей час вони знову стають чутливими до звичайної антибіотикотерапії. Планктонічні форми мають здатність швидко розмножуватися та розповсюджуватися, мікроорганізми в біоплівці цього не можуть робити, але виявляють високу стійкість до макрофагів, бактеріофагів, біоцидів, антитіл, антибіотиків (Stewart, 1996; Stewart et al., 2001; Peter S. Roland, 2002; Mukherjee et al., 2004; Swords et al., 2004; Costerton et al., 2005; Harrison et al., 2005). Таким співтовариством складно керувати ззовні, наприклад, лікувати при захворюваннях полімікробного походження, коли чутливість мікроорганізмів, асоційованих у біоплівку, не відповідає такій, що визначена в лабораторних тестах на клінічних ізолятах чистих культур бактерій (Г. Осипов, 2005). Мікробіологи базують вивчення чутливості до антибіотиків на лабораторних дослідженнях вільних планктонічних форм, які, вірогідно, не є характерними для пацієнта.

Існування бактеріальних біоплівок без сумніву впливає на перебіг запальних захворювань ЛОР-органів, в тому числі і ХГСО (Post, 2001; Chole et al., 2002; Erdos et al., 2003; Fergie et al., 2004; Post et al., 2004;

Dohar et al., 2005; Lasa et al., 2005; Sanclement et al., 2005; Wang et al., 2005; Mehta et al., 2006). Це знаходить відображення в значній кількості досліджень за останні роки. Багато дослідників вказують на те, що бактеріальні біоплівки виявляються при хронічних середніх отитах, холестеатомах, хронічних тонзилітах, риносинуситах, інфекціях, асоційованих з різними медичними засобами (Stewart, 1996; Mukherjee et al., 2004; Post et al., 2004; Cravatt et al., 2005; Ramadan et al., 2005; Liang et al., 2006; Mehta et al., 2006). Традиційні бактеріологічні дослідження виявилися менш успішними, ніж інші методи визначення бактерій, наприклад, полімеразно-ланцюгова реакція (ПЛР). Цей метод дослідження дозволяє виявити навіть нежиттєздатні мікроорганізми, а тому може застосовуватись незалежно від моменту початку антибіотикотерапії. Post (2001) зібрав візуальні докази існування бактеріальних біоплівок при середніх отитах. Використовуючи електронну мікроскопію, він зробив висновки, що бактеріальні біоплівки формуються на слизовій оболонці середнього вуха шиншил при експериментально викликаному *H. influenzae* середньому отиті та можуть утворюватися на тимпаностомних трубках, розміщених у вухах під час хірургічного втручання у хворих. Ці результати підкріплюють гіпотезу про те, що бактеріальні біоплівки не виявляються стандартними культуральними методами і можуть відігравати головну етіологічну роль при середніх отитах та при одному з його ускладнень – посттимпаностомальній оторей (Post, 2001). Позитивні результати ПЛР при негативних стандартних бактеріологічних дослідженнях отримали також і Rauner та співавтори (1998) при обстеженні 93 хворих на ХГСО. 29 екземплярів ексудату (31,2%) були ПЛР-позитивні при негативному бактеріологічному дослідженні (Rauner et al., 1998). Kuczkowski та співавтори підкреслюють, що ПЛР-техніка є досить чутливою і дозволяє прискорити діагностику середнього отиту. Комбінація класичних бактеріологічних досліджень з ПЛР-технікою може бути дуже корисною для оцінки бактеріологічного стану порожнини середнього вуха (Dingman et al., 1998; Kuczkowski et al., 2004).

Утворення бактеріальних біоплівок було виявлене також і при формуванні холестеатоми. Chao та співавтори (1996) знаходили мікроорганізми при електронно-мікроскопічному дослідженні слизової оболонки середнього вуха у 20 пацієнтів з ХГСО, ускладненим холестеатомаю. Бактерії були присутні в 5 випадках. Вони зробили висновок, що, хоча слизова оболонка виглядає під операційним мікроскопом здоровою після видалення холестеатоми, мікроорганізми, які залишилися між війками епітелію, можуть викликати запалення та необхідність антибактеріального лікування (Chao et al., 1996). Chole, Faddis (2002) дослідили, використовуючи світлову та електронну мікроскопію, 24 холестеатоми, отримані під час їх хірургічного видалення у хворих, та 22 експериментально викликані у шиншил холестеатоми. Грамнегативні та грампозитивні мікроорганізми були при цьому знайдені серед скупчень кератину у 21 з 22 шиншил і у 16 з 24 прооперованих пацієнтів. Ділянки скупчення бактерій мали ультраструктурні властивості типового аморфного полісахариду матриці біоплівки.

Olszewska та співавтори (2004) висувують гіпотезу про те, що утворення ретракційної кишені призводить до послаблення захисних механізмів в порожнині середнього вуха та до розвитку планктонічних форм мікроорганізмів. Такі бактеріальні продукти, як ендотоксини, прямо чи побічно стимулюють каскад реакцій за участю цитокинів, що стимулює гіперпроліферацію кератиноцитів та утворення холестеатоми (Olszewska et al., 2004).

Роль бактеріальних біоплівок в патогенезі ХГСО до кінця не з'ясована. Біоплівки здатні змінювати оточуюче середовище кількома способами, наприклад, формувати навколо себе шар глікокаліксу, який захищає їх від шкідливих факторів. Також було доведено, що саме екзополімери відіграють роль факторів агресивності і її рівень відрізняється у різних видів чи штамів мікроорганізмів. На початкових етапах агрегації бактеріальні клітини синтезують розчинні біополімери глікопротеїдної природи, специфічні для даної фази формування біоплівки (В.Г. Войцеховський, 2004). Як тільки глікокалікс сформований, біоплівка починає

утворювати ферменти, які руйнують слизову оболонку та кістку. До якої міри це є остаточною причиною змін слизової оболонки та початку розвитку ХГСО – невідомо. Кістка є сприятливим місцем адгезії бактеріальних клітин, що є початком утворення біоплівки, особливо після порушень, викликаних вірусами під час гострого запального процесу. А.О. Белоусова (2005) звертає увагу на кісткові секвестри, які спричиняють перехід гнійного процесу в хронічний, оскільки в них зосереджуються мікроорганізми. Існування бактеріальних біоплівок в межах холестеатом може пояснити клінічну характеристику ХГСО з холестеатомою, тобто постійність, часті рецидиви інфекції, хірургічне видалення, як єдиний ефективний на теперішній час спосіб лікування (Д.И. Тарасов, 1988; Л.Г. Асауленко, 2004; Guo et al., 1995; Chole et al., 2002; Ronchetti et al., 2003; Cravatt et al., 2005; Wang et al., 2005).

Формування біоплівки також впливає на приживлення різних медичних засобів, наприклад, кохлеарних імплантатів (Cristobal et al., 2004; Pawlowski et al., 2005). Antonelli та співавтори (2004) дослідили 6 кохлеарних імплантатів: 2 – видалених через тривкий інфекційний процес, 2 – видалених через порушення функції імпланту, 2 – які ще не імплантувалися. При скануючій електронній мікроскопії чітко визначалися мікроорганізми на поверхні одного імплантату, який ще не імплантувався, та ще на одному, що був видалений через тривкий інфекційний процес.

Жоден матеріал, який використовується для виготовлення імплантатів, не є біологічно інертним. Мікроорганізми здатні зв'язуватися з їх поверхнями в результаті неспецифічної адгезії. Особливість імплантів як субстратів для адгезії мікроорганізмів полягає в тому, що у них повністю відсутні фактори, які протидіють цьому процесу. Таким чином, при контакті мікроорганізму з поверхнею штучних пристроїв адгезія практично неминуха (С.В. Сидоренко, 2001). Адгезія – це складний процес, який залежить від багатьох факторів: фази росту бактерій, форми й розміру клітин, гідрофобності поверхні та ін. (Л.Г. Асауленко, 2004; Lyte et al., 2003; Cerca et al., 2005; Komlos et al., 2005; Liang et al., 2006). Враховуючи це,

дослідники використовують матеріали, які мають низькі адгезивні властивості (титан, силікон), і також іде активний пошук нових матеріалів (Ultrasil, Gore-Tex, Gore-Tex Plus, Medpor). Застосовуються різні методи обробки імплантів, які попереджують утворення біоплівок (іонізація, покриття різними речовинами та ін.) (Sclafani et al., 1997; Biedlingmaie et al., 1998; Malaisrie et al., 1998; Saidi et al., 1999; Berry, 2000; Gotz, 2002; Emery et al., 2003). Відомо, що при інфекціях успішне лікування аміноглікозидами пов'язане, поряд з іншими факторами, з їхньою здатністю пригнічувати адгезію мікроорганізмів („Механізми біосинтеза антибиотиков”, 1986).

Як було згадано вище, один із способів оцінки та передачі інформації між бактеріями є утворення дифундуючих в середовищі хімічних агентів. Wang та співавтори (2005) дослідили деякі особливості *Pseudomonas aeruginosa*, виділених з 12 холестеатом, які мають значення при утворенні бактеріальних біоплівок: здатність прикріплюватися до кератиноцитів людини; експресію генів, що відповідають за «відчуття кворуму», або Quorum sensing (QS); рухливість; здатність продукувати позаклітинну речовину (матрикс). Автори виявили, що 10 з 12 отопатогенних *P. aeruginosa* (ОРПА) демонстрували більшу здатність прикріплюватися до кератиноцитів людини, ніж лабораторні штами. Експресію генів, які відповідають за «відчуття кворуму», виявлено у 11 ОРПА, а також рухливість і здатність продукувати позаклітинну речовину (матрикс) були вищими у ОРПА в порівнянні з лабораторними штамами (Dohar et al., 2005; Wang et al., 2005).

Дослідження QS системи продемонструвало, що бактерії використовують велику кількість хімічних сигналів для комунікації як всередині, так і між видами. На теперішній час відкриті дві різні комунікаційні системи для специфічного внутрішньовидового спілкування у грампозитивних і грамнегативних бактерій. Механізм реалізації феномена Qs полягає в продукції позаклітинних сигнальних молекул (аутоіндукторів, феромонів), детекції останніх, генерації відповідної реакції. Найдетальніше вивчена роль «відчуття кворуму» в регуляції вірулентності *Pseudomonas aeruginosa*. Під контролем

цієї системи знаходиться утворення біоплівки, синтез практично всіх позаклітинних токсичних ензимів. Блокада «відчуття кворуму» призводить до зниження вірулентності *Pseudomonas aeruginosa* при експериментальних інфекціях.

Аутоіндуктори контролюють синтез основних токсинів також і у *Staphylococcus aureus*. Дуже цікавою знахідкою є визначення конкурентних взаємовідносин між аутоіндукторами, які продукуються *Staphylococcus aureus* та *Staphylococcus epidermidis*. Виявилось, що аутоіндуктори, які продукуються *Staphylococcus epidermidis*, блокують токсинутворення у більшості штамів *Staphylococcus aureus*. Це, можливо, пояснює переважаюче розповсюдження коагулазонегативних стафілококів при катетерасоційованих інфекціях. Для патогенних мікроорганізмів характерно, що мікробні клітини починають взаємодіяти з макроорганізмом тільки в тому випадку, коли концентрація аутоіндукторів сигналі-

зує про достатню щільність мікробної популяції, яка дозволить їм почати продукувати токсичні субстанції в кількості, необхідній для пошкодження тканин людини-господаря.

Традиційне лікування при бактеріальних інфекціях базується на використанні антибіотичних препаратів. Інший перспективний напрямок – створення препаратів, які б впливали на унікальні фізіологічні системи, що не мають аналогів у еукаріотичних організмів. Відкриття комунікаційних систем Qs, регулюючих вірулентність, надає можливість контролювати бактерії без впливу на їхній ріст, а лише на взаємодію між ними, оскільки доведено, що існують фази, коли бактеріальні клітини сприймають чи не сприймають зовнішні регуляторні сигнали (В.Г. Войцеховський, 2004; Saleh et al., 1999; Greiner et al., 2004; Haussler, 2004). Такий підхід суттєво знизив би терапевтичні дози антибіотиків та підвищив ефективність їх використання.

1. Асауленко Л.Г., Пуріш Л.М., Козлова І.П. Етапи формування біоплівки сульфатвідновлювальними бактеріями // Мікробіол. журн. – 2004. – Т.66, №3 – С. 72-79.
2. Белоусова А.О. Патогенетичні механізми хронічного запалення середнього вуха, ускладненого холестеатомою // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. – 2005. – №5. – С. 31-34.
3. Войцеховський В.Г. Агрегація клітин в онтогенезі спороутворюючих мікроорганізмів.: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – К., 2004. – 36 с.
4. Механизмы биосинтеза антибиотиков / Под ред. Г.К. Скрыбина, С.М. Навашина. – М.: «Наука», 1986. – 240 с.
5. Осипов Г. Невидимый орган – микрофлора человека // <http://www.rusmedserv.com/>
6. Сидоренко С.В. Инфекционный процесс как «диалог» между хозяином и паразитом // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2001. – №4. – С. 301-315.
7. Тарасов Д.И. Заболевания среднего уха. – М.: Медицина, 1988. – 287 с.
8. Цыганенко А.Я., Коваленко Н.И., Степаненко С.И., Васильченко В.Н. Межклеточная коммуникация у бактерий и перспективы создания на ее основе антибактериальных препаратов / Х., 2004. – 31 с. (Препр. / МЗ України. ХГМУ; 2004-1).
9. Antonelli P.J., Lee J.C., Burn R.A. Bacterial biofilms my contribute to persistent cochlear implant infection // Otolology & Neurotology. – 2004. – Vol.25. – P. 953-957.
10. Berry J.A., Biedlingmaier J.F., Whelan P.J. In vitro resistance to bacterial biofilm formation on coated fluoroplastic tympanostomy tubes // Otolaryngol Head Neck Surg. – 2000. – Vol.123, №3. – P. 246-251.
11. Biedlingmaier J.F., Samaranayake R., Whelan P. Resistance to biofilm formation on otologic implant materials // Otolaryngol Head Neck Surg. - 1998. – Vol.118, №4. – P. 444-451.
12. Cerca N., Pier G.B., Vilanova M., Oliveira R., Azeredo J. Quantitative analysis of adhesion and biofilm formation on hydrophilic and hydrophobic surfaces of clinical isolates of *Staphylococcus epidermidis* // Microbiol. – 2005. – Vol.156, №4. – P. 506-514.
13. Chao W.Y., Shen C.L. Ultrastructure of the middle ear mucosa in patients with chronic otitis media with cholesteatoma // Eur Arch Otorhinolaryngol. – 1996. – Vol.253. – P. 56-61.
14. Chole R.A., Faddis B.T. Evidence for microbial biofilms in cholestatomas // Arch. Otolaryngol Head Neck Surg. – 2002. – Vol.128. – P. 1129-1133.
15. Costerton J.W., Montanaro L., Arciola C.R. Biofilm in implant infections: its production and

- regulation // *Int J Artif Organs*. – 2005. – Vol.28, №11. – P. 1062-1068.
16. Cravatt E., Rice C.V. Nuclear magnetic resonans spectroscopic studies of lipoteichoic acid adhesion on biomaterials // *Ethn. Dis.* – 2005, Summer. – Vol.15, №3, suppl. 4. – P. 96-97.
 17. Cristobal R., Edmiston C.E.Jr., Runge-Samuelson C.L., Owen H.A., Firszt J.B., Wackym P.A. Fungal biofilm formation on cochlear implant hardware after antibiotic-induced fungal overgrowth within the middle ear // *Pediatr Infect Dis J.* – 2004. – Vol.23, №8. – P. 774-778.
 18. Dingman J.R., Rayner M.G., Mishra S., Zhang Y., Ehrlich M.D., Post J.C., Ehrlich G.D. Correlation between presence of viable bacteria and presence of endotoxin in middle-ear effusion // *J Clin Microbiol.* – 1998. – Vol.36, №11. – P. 3417-3419.
 19. Dohar J.E., Hebda P.A., Veeh R., Awad M., Costerton J.W., Hayes J., Ehrlich G.D. Mucosal biofilm formation on middle-ear mucosa in non-human primate model of chronic suppurative otitis media // *Laryngoscope*. – 2005. – Vol.115, №8. – P. 1469-1472.
 20. Donlan R.M., Costerton J.W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms // *Clin Microbiol Rev.* – 2002. – Vol.15. – P. 167-193.
 21. Emery B.E., Dixit R., Formby C.C., Biedlingmaier J.F. The resistance of maxillofacial reconstruction plates to biofilm formation in vitro // *Laryngoscope*. – 2003. – Vol.113, №11. – P. 1977-1982.
 22. Erdos G., Sayeed S., Antalis P., Hu F.Z., Hayes J., Goodwin J., Dopico R., Post J.C., Ehrlich G.D. Development and characterization of a pooled *Haemophilus influenzae* genomic library for the evaluation of gene expression changes associated with mucosal biofilm formation in otitis media // *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* – 2003 – Vol.67, №7. – P. 749-755.
 23. Fergie N., Bayston R., Pearson J.P., Birchall J.P. Is otitis media with effusion a biofilm infection // *Clin Otolaryngol Allied Sci.* – 2004 – Vol.29, №1. – P. 38-46.
 24. Gotz F. Staphylococcus and biofilms // *Mol Microbiol.* – 2002. – Vol.43, №6. – P. 1367-1378.
 25. Greiner L.L., Watanabe H., Phillips N.J., Shao J., Morgan A., Zaleski A., Gibson B.W., Apicella M.A. Nontypeable *Haemophilus influenzae* strain 2019 produces a biofilm containing N-acetylneuraminic acid that may mimic sialylated O-linked glycans // *Infect Immun.* – 2004. – Vol.72, №6. – P. 4249-4260.
 26. Gyo K., Jyokou H., Komori M., Zenke K. A case of acquired petrous cholesteatoma associated with insidious middle ear infection treated by staging the surgical procedures // *Auris Nasus Larynx.* – 1995. – Vol.22, №3. – P. 192-196.
 27. Harrison J.J., Turner R.J., Ceri H. Persister cell, the biofilm matrix and tolerance to metal cations in biofilm and planktonic *Pseudomonas aeruginosa* // *Environ Microbiol.* – 2005. – Vol.7, №7. – P. 981-994.
 28. Haussler S. Biofilm formation by the small colony variant phenotype of *Pseudomonas aeruginosa* // *Ron Microbiol.* – 2004. – Vol.6, №6. – P. 546-551.
 29. Hobson R., Gould I., Govan J. *Burkholderia (Pseudomonas) cepacia* as a cause of brain abscesses secondary to chronic suppurative otitis media // *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* – 1995. – Vol.14, №10. – P. 908-911.
 30. Hunter R.C., Beveridge T.J. High-resolution visualization of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilms by freeze-substitution transmission electron microscopy // *J. Bacteriol.* – 2005. – Vol.187, №22. – P. 7619-7630.
 31. Il'ina T.S., Romanova I.M., Gintsburg A.L. Biofilms as a mode of existence of bacteria in external environment and host body: the phenomenon, genetic control, and regulation systems of development // *Genetika.* – 2004. – Vol.40. – P. 1445-1456.
 32. Komlos J., Cunningham A.B., Camper A.K., Sharp R.R. Interaction of *Klebsiella oxytoca* and *Burkholderia cepacia* in dual-species batch cultures and biofilms as a function of growth rate and substrate concentration // *Microb. Ecol.* – 2005. – Vol.49, №1. – P. 114-125.
 33. Kuczkowski J., Piatek R., Kur J. Bacterial infections in chronic otitis media – usefulness of molecular diagnostics based on PCR method // *Otolaryngol. Pol.* – 2004. – Vol.58. – P. 497-504.
 34. Lasa I., Del Pozo J.L., Penades J.R., Leiva J. Bacterial biofilm and infection // *An Sist Sanit Navar.* – 2005. – Vol.28, №2. – P. 163-175.
 35. Liang X., Wang A., Cao T., Tang H., McAllister J.P.2nd, Salley S.O., Ng K.Y. Effect of cast molded rifampicin/silicone on *Staphylococcus epidermidis* biofilm formation // *J. Biomed Mater Res A.* – 2006. – Vol.76, №3. – P. 580 - 588.
 36. Lyte M., Freestone P.P., Neal C.P., Olson B.A., Haigh R.D., Bayston R., Williams P.H. Stimulation of *Staphylococcus epidermidis* growth and biofilm formation by catecholamine inotropes // *Lancet.* – 2003. – Vol.361. – P. 130-135.
 37. MacKintosh E.E., Patel J.D., Marchant R.E., Anderson J.M. Effect of biomaterial surface chemistry on the adhesion and biofilm formation of *Staphylococcus epidermidis* in vitro // *J. Biomed Mater Res A.* – 2006. – Vol.78, №4. – P. 836-842.
 38. Malaisrie S.C., Malekzadeh S., Biedlingmaier J.F. In vivo analysis of bacterial biofilm formation on facial plastic bioimplants // *Laryngoscope.* – 1998. – Vol.108, №11 Pt 1. – P. 1733-1738.
 39. Mehta A.J., Lee J.C., Stevens G.R., Antonelli P.J. Opening plugged tympanostomy tubes: effect of biofilm formation // *Otolaryngol Head Neck Surg.* – 2006. – Vol.134, №1. – P. 121-125.

40. Mukherjee P.K., Chandra J. Candida biofilm resistance // *Drug Resist Updat.* – 2004. – Vol.7, №4-5. – P. 301-309.
41. Nunez M.E., Martin M.O., Chan P.H., Duong L.K., Sindhurakar A.R., Spain E.M. Atomic force microscopy of bacterial communities // *Methods Enzymol.* – 2005. – №397. – P. 256-268.
42. Olszewska E., Chodynicky S. Immunological problems in middle ear cholesteatoma // *Otolaryngol. Pol.* – 2004. – Vol.58, №1. – P. 85-90.
43. Pawlowski K.S., Wawro D., Roland P.S. Bacterial biofilm formation on a human cochlear implant // *Otol Neurotol.* – 2005. – Vol. 26, №5. – P. 972-975.
44. Peter S. Roland. Chronic suppurative otitis media: A clinical overview // *Ear, Nose & Throat Journal*, August, 2002.
45. Pink J., Smith-Palmer T., Beveridge T.J., Pink D.A. An FTIR study of *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm growth and dispersion. An improve ATR method for studying biofilms: the C-H stretch spectral region // *Biofilm.* – 2004. Vol.1, №3. – P. 157-163.
46. Post J.C. Direct evidens of bacterial biofilms in otitis media // *Laryngoscope.* – 2001. – Vol.111. – P. 2083-2094.
47. Post J.C., Stoodley P., Hall-Stoodley L., Ehrlich G.D. The role of biofilms in otolaryngologic infections // *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg.* – 2004. – Vol.12. – P. 185-190.
48. Ramadan H.H., Sanclement J.A., Thomas J.G. Chronic rhinosinusitis and biofilms // *Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2005. – Vol.132, №3. – P. 414-417.
49. Rayner M.G., Zhang Y., Gorry M.C., Chen Y., Post J.C., Ehrlich G.D. Evidence of bacterial metabolic activity in culture-negative otitis media with effusion // *JAMA.* – 1998. – Vol. 279. – P. 296-299.
50. Ronchetti F., Ronchetti R., Guglielmi F., Chiappini I., Contini C., Filippo R., Santino I., Cerruto R., Bernardeschi D., Barbara M. Detection of *Chlamydia pneumoniae* in cholesteatoma tissue: any pathogenetic role? // *Otol. Neurotol.* – 2003. – Vol.24, №3. – P. 353-357.
51. Saidi I.S., Biedlingmaier J.F., Whelan P. In vitro resistance to bacterial biofilm formation on tympanostomy tubes as a function of tube material // *Otolaryngol Head Neck Surg.* – 1999. – Vol. 120, №5. – P. 621-627.
52. Saleh A., Figarella C., Kammouni W., Marchand-Pinatel S., Lazdunski A., Tubul A., Brun P., Merten M.D. *Pseudomonas aeruginosa* quorum-sensing signal molecule N-(3-oxododecanoyl)-L-homoserine lactone inhibits expression of P2Y receptors in cystic fibrosis tracheal gland cells // *Infect. Immun.* – 1999. – Vol.67, №10. – P. 5076-5082.
53. Sanclement J.A., Webster P., Thomas J., Ramadan H. Bacterial biofilms in surgical specimens of patients with chronic rhinosinusitis media // *Laryngoscope.* – 2005. – Vol.115, №4. – P. 578-582.
54. Sclafani A.P., Thomas J.R., Cox A.J., Cooper M.H. Clinical and histologic response of subcutaneous expanded polytetrafluoroethylene (Gore-Tex) and porous high-density polyethylene (Medpor) implants to acute and early infection // *Arch Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 1997. – Vol.123, №3. – P. 328 - 336.
55. Stewart P.S. Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms // *Antimicrob. Agents and Chemoter.* – 1996 – Vol.40, №11. – P. 2517-2522.
56. Stewart P.S., Costerton J.W. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms // *Lancet.* – 2001. – Vol.14. – P. 135-138.
57. Swords W.E., Moore M.L., Godzicki L., Bukofzer G., Mitten M.J., VonCannon J. Sialylation of lipooligosaccharides promotes biofilm formation by nontypeable *Haemophilus influenzae* // *Infect. Immun.* – 2004. – Vol.72, №1. – P. 106-113.
58. Vuong C., Kocianova S., Voyich J.M., Yao Y., Fischer E.R., DeLeo F.R., Otto M. A crucial role for exopolysaccharide modification in bacterial biofilm formation, immune evasion, and virulence // *J. Biol. Chem.* – 2005. – Vol.280. – P. 12064.
59. Wang E.W., Jung J.Y., Pashia M.E., Nason R., Scholnick S., Chole R.A. Otopathogenic *Pseudomonas aeruginosa* strains as competent biofilm formers // *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* – 2005. – Vol. 131, №11. – P. 983-989.

Надійшла до редакції 15.06.07.

© А.І. Розкладка, Н.М. Могилівська, 2007