

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ФТОРХІНОЛОНІВ НА ФОРМУВАННЯ БІОПЛІВКИ**S. EPIDERMIDIS****Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара****(м. Дніпропетровськ)**

Дана робота є фрагментом НДР «Теоретичні та практичні основи життєдіяльності мікробіоценозів, форм взаємовідносин з тваринами і рослинами», № держ. реєстрації 0112U000192, Д/б тема № 1-262-12.

Вступ. До кінця минулого століття мікробіологія розвивалася головним чином на основі досліджень чистих культур мікроорганізмів, які, як вважалося, існують суто у вигляді одноклітинних утворень та не мають безпосереднього зв'язку між собою. Сьогодні відомо, що бактерії здатні утворювати конгломерати клітин, всередині яких існує тісний зв'язок. Згадані утворення дістали назву біоплівки і проблема їх стає все більш актуальною для сучасної медицини. Мікробні біоплівки є причиною пневмоній, інфекцій шкіри та м'яких тканин, кісток, суглобів, багатьох гострих і особливо, хронічних бактеріальних інфекцій у людини [1, 4, 5].

Вважається, що біоплівка – це мікробна асоціація, при якій бактерії локалізовані на будь-якій поверхні всередині складноорганізованого екзогенного матриксу, що має білкову або полісахаридну природу [8, 10, 11]. Мікроорганізми, які входять до складу біоплівки, існують у двох формах: фіксованій до поверхні та планктонній, яка представлена вільно плаваючими клітинами, остання є джерелом поширення інфекції з її первинного локусу.

Бактерії, що входять до складу біоплівки більш стійкі до змін навколишнього середовища та впливу антибіотиків. За даними ряду авторів [2, 3, 5, 7] відомо, що концентрації антибіотиків, які діють на планктонні культури бактерій, не ефективні відносно тих самих бактерій, які входять до складу біоплівки.

Метою даної роботи було визначити та порівняти мінімальні пригнічуючі концентрації (МПК) фторхінолонів різних поколінь для планктонних та плівкових культур *S. epidermidis*.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводили для 22 штамів – представників роду *Staphylococcus spp.*, отриманих з лабораторії мікробіології та імунології ДУ «Інституту гастроентерології НАМН України».

Ідентифікацію отриманих штамів проводили відповідно до ознак, наведених у визначнику бактерій Берджі [7]. Для визначення належності до роду *Staphylococcus*, на сольовий агар (10% NaCl)

пересівали всі культури, при мікроскопії матеріалу з яких спостерігали грампозитивні коки, зібрані у грона. Належними до виду *S. epidermidis* вважали коагулазонегативні штами, що утворювали кислоту з сахарози та мальтози в анаеробних умовах, відновлювали нітрати, ферментували глюкозу і лактозу, давали ріст на середовищі Гіса з манітом без утворення кислоти в анаеробних умовах, були чутливі до новобіоцину (МПК < 1,6 мкг/мл). Диференціацію стафілококів на коагулазопозитивні та коагулазонегативні проводили з використанням сухої цитратної плазми кролика (ЗАТ «Біолік», Україна) в реакції плазмокоагуляції.

Здатність до плівкоутворення перевіряли у 6 виділених штамів *S. epidermidis*. У лунки стерильного імунологічного планшета вносили 0,2 мл м'ясопептонного бульйону (МПБ), засівали 0,1 мл суспензії, що містила $1 \cdot 10^6$ клітин/мл добової культури штаму *S. epidermidis*. За плівкоутворенням спостерігали впродовж 72 годин. Після закінчення інкубації залишки середовища видаляли за допомогою дозатора. Плівка, що залишилася на стінках лунки, свідчила про здатність штаму до плівкоутворення.

Визначали чутливість досліджуваних штамів *S. epidermidis* до фторхінолонів різних поколінь. Чутливість до антибіотиків визначали з використанням диск-дифузійного методу. Було використано диски з такими антибіотиками: налідиксова кислота, піпемідінова кислота, ципрофлоксацин, офлоксацин, норфлоксацин, левофлоксацин, спарфлоксацин (ТОВ «Аспект», РФ). Через 18 год вимірювали зони затримки росту. Антибіотики обирали серед найбільш застосовуваних у клінічній практиці. Облік результатів здійснювали у відповідності до таблиць стандартних зон затримки росту, що наведені у наказі №167 [6].

Для встановлення рівня чутливості штамів до антибіотиків використовували метод розведення, оснований на використанні подвійних послідовних розведень концентрацій антибіотика від максимальної до мінімальної [12, 13]. При цьому антибіотик в різних концентраціях від 0,1 до 2,0 мкг/мл вносили в рідке живильне середовище (бульйон). Потім бактеріальну суспензію, що містила $1,0 \cdot 10^6$ клітин/мл, додавали в бульйон з антибіотиком. Після інкубації протягом 24 год при температурі 37°C проводили

облік отриманих результатів. Першу найменшу концентрацію антибіотика (із серії послідовних розведень), де візуально не визначається бактеріальний ріст вважали мінімальною пригнічуючою концентрацією (МПК) для досліджуваного штаму.

Визначали МПК фторхінолонів, що пригнічують плівкоутворення. Для отримання біоплівки на планшеті в лунки 96-лункового імунологічного планшета вносили по 0,2 мл МПБ. З основного розведення антибіотика (1 г антибіотика в 10 мл ізотонічного розчину 0,5% натрію хлориду) відбирали 0,05 мл і вносили в першу лунку планшета, після того робили серійні розведення антибіотиків в лунках з поживним середовищем. В кожну лунку вносили по 0,05 мл бактеріальної суспензії, яка містила $1 \cdot 10^4$ клітин/мл. Планшет інкубували при 37°C. Врахування результатів проводили через 72 години. Остання лунка планшета, в якій не спостерігалось утворення біоплівки протягом 72 годин відповідала МПК антибіотика.

Для отримання біоплівки у флаконах: на дно стерильних флаконів поміщали стерильне покривне скло, вносили 0,4 мл добової бульйонної культури, яка містила $1 \cdot 10^6$ КУО/мл, інкубували 3 год у термостаті при 37°C. Після цього додавали свіже поживне середовище 1,6 мл до загального об'єму 2,0 мл. Флакони витримували 3 год при 37°C. Антибіотик додавали під час засіву бактеріальної суспензії, через 24 та 48 год. культивування. Після внесення антибіотиків, півки ще добу інкубували при 37°C, після чого проводили висів для визначення КУО. В якості контролю використовували півки, вирощені на поживному середовищі без антибіотиків.

Результати досліджень та їх обговорення. Об'єктами дослідження були 22 штами бактерій роду *Staphylococcus spp.*, що надані лабораторією мікробіології та імунології ДУ «Інституту гастроентерології НАМН України».

Серед досліджених 22 штамів до коагулазонегативних стафілококів належали 10 штамів. За результатами вивчення фізіолого-біохімічних властивостей встановлено, що 6 штамів відносилися до виду *S. epidermidis*.

Однією з біологічних властивостей багатьох бактерій є здатність до плівкоутворення. Було визначено, що з 6 досліджуваних штамів *S. epidermidis*, 3 були здатні до плівкоутворення. Для подальших досліджень було обрано один зі штамів, що відрізнявся найбільш істотним проявом факторів патогенності – виявляв гемоліз та високий рівень адгезивних властивостей до клітин букального епітелію людини, продукував ліпазу та лецитиназу.

У якості контролю використовували колекційний штам *Staphylococcus epidermidis*, що має плазмідну *EcNpμUT2Lcngfr*. Штам отриманий з колекції культур інституту молекулярної біології та інфектології Вюрцбурга (Німеччина).

Визначення стійкості до фторхінолонів різних поколінь показало, що обидва штами *S. epidermidis*, як контрольний, так і дослідний були чутливими до офлоксацину – середня зона пригнічення росту

$17 \pm 0,3$ мм та левофлоксацину – середня зона пригнічення $18 \pm 0,3$ мм.

Визначено різницю у МПК для планктонної та плівкової культури досліджуваних штамів *S. epidermidis*. МПК офлоксацину для планктонної культури контрольного штаму *S. epidermidis* складала – 0,25 мкг/мл, а для левофлоксацину – 0,7 мкг/мл. Для дослідного штаму МПК офлоксацину – 0,3 мкг/мл, а для левофлоксацину – 0,75 мкг/мл. МПК ініціації та формування в динаміці біоплівки контрольним штамом на планшеті складала: для офлоксацину – 0,5 мкг/мл, для левофлоксацину – 1,4 мкг/мл, а для дослідного штаму *S. epidermidis* – для офлоксацину – 0,6 мкг/мл, для левофлоксацину – 1,5 мкг/мл.

Відомо, що бактерії у складі біоплівки характеризуються підвищеною стійкістю до антибіотиків та агресивних факторів навколишнього середовища [9]. В зв'язку з цим визначені для планктонної культури МПК антибіотиків не провокували руйнування та пригнічення росту вже сформованої біоплівки. Тому вивчали вплив на формування та на сформовану протягом 1-ї та 2-х діб біоплівку концентрацій офлоксацину та левофлоксацину, що перевищували МПК для плівкової культури у 10, 50, 100 разів.

При внесенні офлоксацину у концентрації, яка була у 10, 50, або 100 раз вища за МПК, до плівкової культури контрольного чи дослідного штамів *S. epidermidis* під час засіву бактеріальної суспензії формування біоплівки не спостерігали (**табл. 1**).

Після додавання офлоксацину до середовища зі сформованою протягом 1-ї доби біоплівки у концентрації, що у 10 раз перевищувала МПК півки, було визначено, що кількість КУО/мл знижувалася для контрольного штаму у 1,3 рази та у 1,1 рази для дослідного. При внесенні вказаної концентрації до 2-х добової біоплівки контрольного штаму спостерігали зниження кількості КУО/мл у 1,25 рази, а для дослідного – у 1,28 рази порівняно з плівковою культурою, що формувалася в середовищі без додавання антибіотика.

При внесенні до добової біоплівки контрольного штаму концентрації офлоксацину, яка перевищує МПК плівкової культури у 50 раз спостерігали зменшення кількості КУО/мл у $1,25 \cdot 10^3$, а для дослідного – у $1,31 \cdot 10^3$ раз, при додаванні тієї ж концентрації офлоксацину до 2-х добової біоплівки контрольного штаму кількість КУО/мл знижувалася у 63 рази, а для виділеного штаму – у 95 разів порівняно з півкою, що формувалася в середовищі без антибіотика.

Найбільш ефективно на сформовану протягом 1-ї доби біоплівку, як контрольного, так і для дослідного штамів, впливала концентрація офлоксацину, яка у 100 раз перевищувала МПК для півки і становила відповідно 1- 1,2 мкг/мл.

Після внесення данної концентрації антибіотика, до добової біоплівки контрольного штаму спостерігали зменшення кількості КУО/мл у $1,08 \cdot 10^4$ раз, для дослідного штаму – $6,04 \cdot 10^3$ раз. При додаванні вказаної концентрації офлоксацину до 2-х добової біоплівки контрольного штаму кількість КУО/мл складала $3,6 \cdot 10^3$, а для виділеного $1,6 \cdot 10^4$,

Кількість КУО/мл у складі біоплівок досліджуваних штамів стафілококів, сформованих під впливом різних концентрацій антибіотиків

Час внесення антибіотика в поживне середовище (доба)	Контрольний штам				Дослідний штам			
	концентрація антибіотику, мкг/мл							
	контроль	10	50	100	контроль	10	50	100
Під час засіву бактеріальної суспензії	$3,3 \times 10^4$	–	–	–	$4,1 \times 10^4$	–	–	–
1	$2,5 \times 10^6$	$1,8 \times 10^6$	$2,0 \times 10^3$	$2,3 \times 10^2$	$2,1 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$	$1,6 \times 10^3$	$12,6 \times 10^3$
2	$2,0 \times 10^7$	$1,6 \times 10^7$	$3,2 \times 10^5$	$5,5 \times 10^3$	$1,8 \times 10^7$	$1,4 \times 10^7$	$1,9 \times 10^5$	$1,15 \times 10^3$

порівняно з плівкою, що формувалася без додавання антибіотика (табл. 1).

Дослідження впливу різних концентрацій левофлораксацину на формування та на сформовану протягом 1-ї та 2-х діб біоплівку дозволило встановити, що при додаванні концентрації левофлораксацину, яка у 10, в 50 або 100 разів більша за МПК ініціації та формування біоплівки контрольним та дослідним штамом під час засіву бактеріальної суспензії формування біоплівки не спостерігалось, як і при використанні офлораксацину.

Після додавання концентрації левофлораксацину, що перевищувала МПК для плівки в 10 раз до рідкого поживного середовища, в якому знаходились сформовані протягом 1-ї та 2-х діб біоплівки було

визначено, що кількість КУО/мл суттєво не знижується, як для контрольного, так і для виділеного штаму.

При внесенні до добової біоплівки контрольного штаму концентрації препарату, що перевищує МПК для біоплівки у 50 раз, відмічали зменшення кількості КУО/мл у $5,54 \cdot 10^2$ рази, а для дослідного – $1,034 \cdot 10^3$ рази, при додаванні тієї ж концентрації левофлораксацину до 2-х добової біоплівки контрольного штаму кількість КУО/мл знижувалася у $1,4 \cdot 10^2$ рази, а для виділеного штаму – у 45 раз порівняно з плівкою, що формувалася в середовищі без антибіотику.

Встановлено, що як і у випадку з офлораксацином, концентрація левофлораксацину, яка в 100 раз більша МПК, що пригнічувала формування біоплівки на

Таблиця 2

Кількість КУО/мл у складі біоплівок досліджуваних штамів стафілококів, сформованих під впливом різних концентрацій антибіотиків

Час внесення антибіотика в поживне середовище (доба)	Контрольний штам				Дослідний штам			
	концентрація антибіотику, мкг/мл							
	контроль	10	50	100	контроль	10	50	100
Під час засіву бактеріальної суспензії	$8,1 \times 10^4$	–	–	–	$4,9 \times 10^4$	–	–	–
1	$2,1 \times 10^6$	$1,3 \times 10^6$	$3,8 \times 10^3$	$3,15 \times 10^2$	$2,9 \times 10^6$	$1,9 \times 10^6$	$2,8 \times 10^3$	$8,7 \times 10^3$
2	$4,6 \times 10^7$	$2,4 \times 10^7$	$3,2 \times 10^5$	$2,2 \times 10^3$	$2,03 \times 10^7$	$1,9 \times 10^7$	$4,5 \times 10^5$	$4,8 \times 10^3$

планшеті, більш ефективно знижувала кількість КУО/мл у добовій та 2-х добовій біоплівці (табл. 2).

Після внесення до добової біоплівки контрольного штаму концентрації антибіотика, яка перевищувала МПК у 100 разів, спостерігали зменшення кількості КУО/мл у $1,5 \cdot 10^4$ раз, та дослідного штаму – $3,04 \cdot 10^3$ раз, при додаванні вказаної концентрації левофлоксацину до 2-х добової біоплівки контрольного штаму кількість КУО/мл знижувалася у $2,04 \cdot 10^4$ рази, а для дослідного у $4,24 \cdot 10^3$ рази порівняно з плівкою, що формувалася без додавання антибіотика.

Таким чином, можна заключити, що більш ефективно використані концентрації антибіотиків впливали на добу, порівняно з 2-х добовою плівкою. Серед антибіотиків, найефективнішим виявився офлоксацин, з концентрацією у 100 раз вищою за МПК для плівкової культури, так як відбувалося зниження кількості КУО/мл у $1,5 \cdot 10^4$ раз для контрольного, та у $3,0 \cdot 10^3$ раз для дослідного штаму.

Висновки.

1. Визначено, що із 22 штамів *Staphylococcus spp.*, отриманих з лабораторії мікробіології ДУ «Інституту гастроентерології НАМН України», 27% штамів належали до виду *S. epidermidis*. З них 50% мали здатність до формування біоплівки.

2. Встановлено, що МПК офлоксацину для планктонної культури контрольного штаму *S. epidermidis* становила 0,25 мкг/мл, а МПК левофлоксацину – 0,75 мкг/мл. Для планктонної культури дослідного штаму МПК офлоксацину – 0,3 мкг/мл, а левофлоксацину – 0,7 мкг/мл.

3. Визначено, що МПК для плівкової культури контрольного штаму для офлоксацину становив

0,5 мкг/мл, а левофлоксацину – 1,5 мкг/мл; для дослідного штаму: для офлоксацину – 0,6 мкг/мл, а левофлоксацину – 1,4 мкг/мл.

4. Встановлено, що дози офлоксацину та левофлоксацину, які перевищують у 10, 50 та 100 разів МПК для плівкової культури, призводять до деструкції біоплівки.

5. З'ясовано, що серед антибіотиків найефективнішим виявився офлоксацин, внесення якого концентрації у 100 раз вищій за МПК для плівки, призводило до зниження кількості КУО/мл у $1,5 \cdot 10^4$ рази для контрольного, та у $3,0 \cdot 10^3$ рази для дослідного штаму.

Перспективи подальших досліджень. Останнім часом відмічається збільшення кількості випадків, коли антибактеріальні препарати та їх комплекси стають неефективними у лікуванні інфекційних процесів. Значну роль у даному явищі відіграє біоплівкова організація. У складі біоплівки умовно-патогенні бактерії набувають ознак підвищеної стійкості до антибіотиків та інших факторів довкілля. Сьогодні відомо, що серед усіх інфекційних захворювань близько 65-80% викликаються бактеріями, що формують біоплівки. Для сучасної системи охорони здоров'я важливим є вивчення механізмів стійкості бактерій, які входять до складу біоплівки, бо завдяки їх розумінню з'являються нові можливості впливу на формування та видалення біоплівки з інфікованого організму і уникнення розвитку хронічного інфекційного процесу. Тому вивчення впливу антибіотиків на вже сформовану біоплівку є актуальною проблемою, яка потребує детального вивчення та негайного вирішення.

Література

1. Афиногенова А. Г. Микробные биопленки РАН: состояние вопроса / А. Г. Афиногенова, Е. Н. Даровская // Травматология и ортопедия России. – 2011. – №3. – С. 119–125.
2. Белобородова Н. В. Микробные биопленки / Н. В. Белобородова, И. Т. Байрамов // НЦ ССХ им. А. Н. Бакулева РАМН, г. Москва, Россия. – Код доступа http://dental-hygiene.ru/index.php?title=Микробные_биопленки.
3. Гостев В. В. Бактериальные биопленки и инфекции / В. В. Гостев, С. В. Сидоренко // Журнал инфектологии. – 2010. – Т. 2, №3. – С. 4–15.
4. Маянский А. Н. Стафилококковые биопленки: структура, регуляция, отторжение. / А. Н. Маянский, И. В. Чеботарь // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – № 1. – С 101-108.
5. Николаев Ю. А. Биопленка – «город микробов» или аналог многоклеточного организма? / Ю. А. Николаев В. К. Плакунов, // Микробиология. – 2007. – Т. 76, №2. – С. 149-163.
6. Наказ МОЗ України № 167 від 05. 04. 2007 «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». – К.: МОЗ України, 2007. – 63 с.
7. Определитель бактерий Берджи: пер. с англ. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – Москва : «Мир», 1997. – 555 с.
8. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок / Т. А. Смирнова, Л. В. Диденко, Р. Р. Азизбекян, Ю. М. Романова // Микробиология. – 2010. – Т. 79, №4. – С. 435-446.
9. Тец В. В. Бактериальные сообщества. Клеточные сообщества / под ред. В. В. Тец. – СПб.: Изд-во СПб ГМУ, 1998. – С. 15-73.
10. Чеботарь И. В. Новый метод количества учета кокков в надклеточных образованиях – кластерах и биопленке / И. В. Чеботарь, Е. А. Таланин, Е. Д. Кончакова // Стоматология, травматология, микробиология. – 2010. – №3. – С. 14-17.
11. Beveridge T. J. Visualizing bacterial cell walls and biofilms / T. J. Beveridge // Microbe. – 2006. – Vol. 1, №6. – P. 1–6.
12. Biofilms, Infection, and Antimicrobial Therapy / ed. J. L. Pace [et al.]. – Boca Raton : Taylor & Francis Group, 2006. – P. 495.
13. Cirioni O. RNAIII-Inhibiting Peptide Significantly Reduces Bacterial Load and Enhances the Effect of Antibiotics in the Treatment of Central Venous Catheter-Associated *Staphylococcus aureus* Infections / O. Cirioni [et. al.] // J. of Inf. Dis. – 2006. – № 193. – P. 180–186.

14. Raad I. Staphylococcus epidermidis: emerging resistance and need for alternative agents / I. Raad, A. Alrahan, K. Rolston // Clin. Infect. Dis. – 1998. – № 26. – P. 112–116.
15. Tormo M. A. Bar-dependent biofilm formation by pathogenic species of Staphylococcus: evidence of horizontal gene transfer? / M. Arangeles Tormo, [et. al.] // Microbiology. – 2005. – № 151. – P. 2465–2475.

УДК 579. 61:616-078

ВИВЧЕННЯ ВПЛИВУ ФТОРХІНОЛОНІВ НА ФОРМУВАННЯ БІОПЛІВКИ *S. EPIDERMIDIS*

Сидоренко Д. В., Сідашенко О. І., Воронкова О. С., Вінніков А. І.

Резюме. В ході проведених досліджень встановлено, що мінімальна пригнічуюча концентрація (МПК) офлоксацину для планктонної культури контрольного штаму *S. epidermidis* становила 0,25 мкг/мл, а МПК левофлоксацину – 0,75 мкг/мл, для планктонної культури дослідного штаму МПК офлоксацину – 0,3 мкг/мл, а левофлоксацину – 0,7 мкг/мл. Визначено, що МПК для плівкової культури контрольного штаму для офлоксацину – 0,5 мкг/мл, а левофлоксацину – 1,5 мкг/мл; для дослідного штаму – для офлоксацину – 0,6 мкг/мл, а левофлоксацину – 1,4 мкг/мл.

Досліджено, що дози офлоксацину та левофлоксацину, які перевищують у 10, 50 та 100 раз МПК для плівкової культури, призводять до деструкції біоплівки. З'ясовано, що серед антибіотиків найефективнішим виявився офлоксацин, концентрацією у 100 раз вищою за МПК для плівки, відбувалося зниження кількості КУО/мл у $1,5 \cdot 10^4$ для контрольного, та у $3,0 \cdot 10^3$ раз для дослідного штаму.

Ключові слова: біоплівка, МПК, фторхінолони, КУО, *S. epidermidis*.

УДК 579. 61: 616-078

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ФТОРХИНОЛОНОВ НА ФОРМИРОВАНИЕ БИОПЛЕНКИ *S. EPIDERMIDIS*

Сидоренко Д. В., Сідашенко О. І., Воронкова О. С., Вінніков А. І.

Резюме. В ходе проведенных исследований установлено, что МПК офлоксацина для планктонной культуры контрольного штамма *S. epidermidis* составляла 0,25 мкг/мл, а МПК левофлоксацина – 0,75 мкг/мл, для планктонной культуры исследуемого штамма МПК офлоксацина – 0,3 мкг/мл, а левофлоксацина – 0,7 мкг/мл. Определено, что МПК для пленочной культуры контрольного штамма для офлоксацина – 0,5 мкг/мл, а левофлоксацина – 1,5 мкг/мл; для исследуемого штамма – для офлоксацина – 0,6 мкг/мл, а левофлоксацина – 1,4 мкг/мл.

Установлено, что дозы офлоксацина и левофлоксацина, которые превышают в 10, 50 и 100 раз МПК для пленочной культуры, приводят к деструкции биопленки. Выяснено, что среди антибиотиков самым эффективным оказался офлоксацин, концентрацией в 100 раз более высокой за МПК для пленки, происходило снижение количества КОЕ/мл в $1,5 \cdot 10^4$ для контрольного, и в $3,0 \cdot 10^3$ раз для исследуемого штамма.

Ключевые слова: биопленка, МПК, фторхинолоны, КОЕ, *S. Epidermidis*.

UDC 579. 61: 616-078

The Study Influence of Fluoroquinolones on the Biofilm Forming of *S. Epidermidis*

Sidorenko D. V., Sidashenko O. I., Voronkova O. S., Vinnikov A. I.

Abstract. By the end of the last century microbiology was developed mainly on the basis of research of pure cultures of microorganisms, which were thought to exist purely in the form of unicellular formations and are not linked with each other. Today it is known that bacteria can form conglomerates cells, inside of which there is a close relationship. Mentioned education received the name of biofilms and the problem becomes more relevant to modern medicine. Microbial biofilms is the cause of pneumonia, infections of skin and soft tissues, bones, joints, and many acute and especially, chronic bacterial infections in humans. The microbial association, in which bacteria are localized on any surface inside exogenous matrix that has the protein or polysaccharide nature are biofilms. Bacteria that are part of biofilms are more resistant to environmental changes and the effects of antibiotics. It is known that the concentration of antibiotics that act on the planktonic bacteria cultures, are not effective against the same germs that are part of the biofilm.

The aim of this work was to assess and compare the minimum inhibition concentration (MIC) of fluoroquinolones different generations for planktonic and biofilm cultures of *S. epidermidis*.

The objects of the research were 22 strains of bacteria of *Staphylococcus spp.*

Among the 22 studied strains to coagulase-negative staphylococci belonged 10 strains. According to the results of the study of physiological and biochemical properties found that 6 strains belonged to the *S. epidermidis* strains.

One of the biological properties of many bacteria is the ability to film formation. It was determined that, with 6 of the studied strains of *S. epidermidis*, 3 strains were able to film formation. For further research was selected as one of the strains differed the most significant manifestation of the pathogenic factors exercised hemolysis and a high level of adhesion properties of the cells of buccal epithelium, culture produced under vital activity lipase and lecithinase. Determination of resistance to fluoroquinolones different generations showed that the two strains

S. epidermidis, both the control and research were sensitive to ofloxacin – central zone of inhibition of growth of $17 \pm 0,3$ mm and levofloxacin – average area of suppression of $18 \pm 0,3$ mm

In the course of conducted researches it is established MIC of ofloxacin for the planktonic culture of the control strains of *S. epidermidis* define 0,25 mg/ml, and MIC of levofloxacin – 0,75 mg/ml, for the planktonic culture of clinical strains of MIC of ofloxacin – 0,3 mg/ml, and levofloxacin – 0,7 mg/ml. MIC for the biofilm culture of control strains for ofloxacin – 0,5 mg/ml, and levofloxacin – 1,5 mg/ml; for clinical strains – for ofloxacin – 0,6 mg/ml, and levofloxacin – 1,4 mg/ml.

Established that MIC antibiotics that inhibit the growth of plankton cultures on average 2 times lower compared to the MIC, which inhibit biofilm formation.

Investigational, that doses of ofloxacin and levofloxacin, that exceed in 10, 50 and 100 time MIC for a biofilm culture, result in destruction of biofilm. It found, that among antibiotics ofloxacin appeared most effective, by a concentration in 100 times higher after MIC for tape, there was a decline of amount of CFU/ml in $1,54 \cdot 10^4$ for control, and in $3,04 \cdot 10^3$ times for a clinical strain.

For a modern system of public health is important to study the mechanisms of stability of bacteria, which are part of the biofilm, because of their understanding of new opportunities to influence the formation and destruction of biofilms with the infected organism and to avoid the development of chronic infectious process.

Key words: biofilm, MIC, fluoroquinolones, CFU, *S. epidermidis*.

Рецензент – проф. Міщенко І. В.

Стаття надійшла 27. 01. 2014 р.